



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HONAMLI KEÇİLERİNDE GEBELİĞİN NİTRİK
OKSİT METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Aleyna ÖZDAMAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU

II. Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mesih KOCAMÜFTÜOĞLU

BURDUR-2022

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HONAMLI KEÇİLERİNDE GEBELİĞİN NİTRİK
OKSİT METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Aleyna ÖZDAMAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU

II. Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mesih KOCAMÜFTÜOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince desteği ile her zaman yanımda olan, bilgi birikimi ve tecrübesiyle yoluma ışık olan danışman hocam Doç. Dr. Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans tezimde ikinci danışman olan Dr. Öğr. Üyesi Mesih KOCAMÜFTÜOĞLU'na katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Ayrıca Dr. Atakan ÇORTU'ya, Araş. Gör. Yasemin Şahin'e ve Veteriner Hekim Durmuş KAHRAMAN'a katkılarından dolayı teşekkürü borç bilirim. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri hocalarıma teşekkür ederim. Hayatımda her zaman arkamda olan, maddi manevi destekleri ile beni hiç yalnız bırakmayan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN SAYFASI	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TÜRKÇE ÖZET	ix
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Honamlı Keçisi	5
2.2. Nitrik Oksit Tanımı	6
2.3. Nitrik Oksit Üretimi	8
2.4. Nitrik Oksit Sentaz	10
2.5. Nitrik Oksit Etki Mekanizması	12
2.6. Nitrik Oksitin Organizmadaki Görevleri	13
2.7. Gebelik ve NO	16
2.8. Asimetrik Dimetil L-Arjinin (ADMA)	18
2.9. ADMA'nın Biyosentezi	21
2.10. ADMA Metabolizması	22
2.11. ADMA ve NO	23
2.12. Dimetilarjinin DimetilAminoHidralaz (DDAH) Enzimi	25
2.13. Homosistein	28
2.14. Homosistein Metabolizması	29
2.15. Homosistein, ADMA, NO, DDAH İlişkisi	33
3. GEREÇ YÖNTEM	35
3.1. Gereç	35
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Analizlerin Yapılışı	36
3.2.2. Eliza Yönteminin Uygulanması	37
3.2.3. Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi	40
4. BULGULAR	41
4.1. iNOS Aktivitesi	41
4.2. ADMA Düzeyleri	42
4.3. DDAH Aktivitesi	43
4.4. Homosistein Düzeyleri	44
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Honamlı keçisi	6
Şekil 2.2. Nitrik oksit moleküler modeli	7
Şekil 2.3. Nitrik Oksit Sentezi	7
Şekil 2.4. L-Arjininden Nitrik Oksit Sentezi	8
Şekil 2.5. NOS Sentez Mekanizması	9
Şekil 2.6. NO sentez reaksiyonu	10
Şekil 2.7. Nitrik oksit sentezi ve etkileri	12
Şekil 2.8. Nitrik Oksit Salınım Mekanizması	13
Şekil 2.9. Nitrik oksitin fizyolojik etkisi	15
Şekil 2.10. NO'nun Üreme Üzerindeki Fonksiyonları	17
Şekil 2.11. Proteinlerdeki arjinin kalıntılarının PRMT ile Metilasyonu	19
Şekil 2.12. ADMA Biyosentezi ve Metabolizması	21
Şekil 2.13. ADMA metabolizması	23
Şekil 2.14. ADMA tarafından NOS enziminin inhibe edilmesi	24
Şekil 2.15. DDAH İzofomları	26
Şekil 2.16. Enzim-Substrat Bağlanma Cebi	27
Şekil 2.17. Homosisteinin Yapısı	28
Şekil 2.18. Homosistein oluşumu	30
Şekil 2.19. Homosistein Metabolizması	31
Şekil 2.20. Homosistein metabolizma yolağı	32
Şekil 2.21. ADMA, NO, HCY, DDAH İlişkisi	34
Şekil 3.1. ADMA Eliza Standart Eğrisi	37
Şekil 3.2. DDAH Eliza Standart Eğrisi	38
Şekil 3.3. iNOS Eliza Standart Eğrisi	39
Şekil 3.4. Homosistein Eliza Standart Eğrisi	39
Şekil 4.1. Gebe olmayan ve gebe grupların iNOS sütun grafiğı	41
Şekil 4.2. Gebe olmayan ve gebe grupların ADMA sütun grafiğı	42
Şekil 4.3. Gebe olmayan ve gebe grupların DDAH sütun grafiğı	43
Şekil 4.4. Gebe olmayan ve gebe grupların Homosistein sütun grafiğı	44

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Nitrik Oksit Fonksiyonları	16
Tablo 4.1. iNOS Aktivitesi	41
Tablo 4.2. ADMA Düzeyleri	42
Tablo 4.3. DDAH Aktivitesi	43
Tablo 4.4. Homosistein Düzeyleri	44
Tablo 4.5. Gebe olmayan ve gebe grupların serum ADMA, iNOS, DDAH ve Homosistein Düzeyleri	45



SİMGELER ve KISALTMALAR

ADMA	Asimetrik dimetilarginin
BH₄	Tetrahydrobiopterin
C	Santigrat
Ca	Kalsiyum
CAM	Kalmodulin
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
Cnos	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
DDAH	Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
eNO	Endotelial Nitrik Oksit
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
Fe	Demir
FMN	Flavin Mononükleotid
G	Gram
Hcy	Homosistein
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
K	Potasyum
kg	Kilogram
L	Litre
LDL	Low Density Lipoprotein
mg	Miligram
ml	Mililitre
μmol	Mikromol
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
ng	Nanogram
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NO₂	Nitrit
NO₃	Nitrat
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂	Oksijen
PRMT	Protein Arjinin Metil Transferaz
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
RES	Retikülo Endotelial Sistem
TNFα	Tümör Nekroz Faktör

ÖZET

Honamlı Keçilerinde Gebeliğin Nitrik Oksit Metabolizmasına Etkilerinin Araştırılması

Ülkemizde son yıllarda koyun ve keçi sayısı azalma göstermiştir. Akdeniz bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Honamlı keçileri bölge için önemli bir ırktır. Bu sebeple keçilerde koç katımı sonrası elde edilecek gebelik oranı önem arz etmektedir. Serbest radikal bir gaz olan nitrik oksitin diğer etkilerinin yanısıra üreme fonksiyonları üzerine de etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. Memelilerin genital organlarından da sentezlenen nitrik oksitin üremenin hormonal düzenlenmesi, gebeliğin şekillenmesi ve devamı, doğumda ve ovaryum fonksiyonlarının yerine getirilmesinde fizyolojik bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Oksidatif stresle ilişkili birçok durumda düzeyleri değişen serum iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile homosistein ve ADMA düzeyleri birbirleriyle ilişkili ve NO metabolizması ile ilgili parametrelerdir. Bu yüksek lisans tezinde, doğal döllenme sonrası gebe kalan ve gebe kalmayan keçilerde serum iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile ADMA ve Hcy düzeyleri belirlenerek, bu parametrelerin gebe kalma oranıyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, yaşları 2-4 arasında değişen Honamlı melezi dişi keçilerde, teke katımından 50-60 gün sonra sezon içi gebelik muayenesi yapılarak, gebe kalan (n=20) ve gebe kalmayan (n=20) keçilerden kan örnekleri alındı. Serum iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile homosistein ve ADMA düzeyleri Eliza kit ile ölçüldü. Gebe olmayan grup ADMA ve homosistein düzeyleri, gebe olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$). iNOS ve DDAH aktivitelerinde ise gruplar arası anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Gebe olan grupta ADMA ve Homosistein düzeylerinin düşmesi organizmada stres mekanizmalarını azaltarak gebelik ve gebeliğin devamının sağlanmasında önemli metabolik etkilere sahip olmuştur. Plazmada yüksek ADMA ve homosistein düzeyleri ise endotel disfonksiyona neden olarak gebe kalma oranının düşürmesiyle sonuçlanabilir. Keçi sürülerinde verimin ve üreme kalitesinin arttırılmasında, bu parametrelerin kullanılabilirliği açısından bu çalışmanın verileri ileri çalışmalar için referans değerler sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: ADMA, DDAH, Homosistein, Honamlı Keçisi, iNOS, Nitrik oksit

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Pregnancy on Nitric Oxide Metabolism in Honamli Goats

The number of sheep and goats in our country has decreased in recent years. Honamli goats, which are bred in the Mediterranean region, are an important breed for the region. For this reason, the pregnancy rate to be obtained after ram accession in goats is important. It is believed that nitric oxide, a free radical gas, may have effects on reproductive functions, among other effects. Nitric oxide is synthesized from the genitals of hormonal regulation of reproduction in mammals, the formation and continuation of pregnancy, births and it is suggested that a physiological role in the performance of ovarian function. Serum iNOS and DDAH enzyme activities with varying levels in many cases associated with oxidative stress, as well as homocysteine and ADMA levels are parameters related to each other and related to NO metabolism. In this master's thesis, it is aimed to investigate the relationship of these parameters with the conception rate by determining the serum iNOS and DDAH enzyme activities and ADMA and Hcy levels in goats that were conceived and did not conceive after natural fertilization. For this purpose, an in-season pregnancy examination was performed 50-60 days after single entry in Honam hybrid female goats between the ages of 2-4, and blood samples were taken from pregnant (n=20) and non-pregnant (nDec=20) goats. Serum iNOS and DDAH enzyme activities as well as homocysteine and ADMA levels were measured with the Eliza kit. ADMA and homocysteine levels of the non-pregnant group were found to be statistically significantly higher than those of the pregnant group ($p<0.05$). On the other hand, no significant differences were found between the groups in iNOS and Dec activities. The decrease in ADMA and Homocysteine levels in the pregnant group had important metabolic effects on ensuring pregnancy and the continuation of pregnancy by reducing stress mechanisms in the organism. High ADMA and homocysteine levels in plasma can cause endothelial dysfunction, resulting in a decrease in the rate of conception. In terms of increasing the yield and quality of reproduction in goat herds, the data of this study in terms of the availability of these parameters can provide reference values for further studies.

Key words: ADMA, DDAH, Homocysteine, Honamli goats, iNOS, Nitric oxid

1. GİRİŞ

Honamlı Yörükleri Aşireti tarafından yetiştirilen Honamlı kıl keçileri asırlardan beri Orta ve Batı Toroslar'da yetiştirilmektedir (Karadağ O. 2018). Uzun yıllar boyunca Kıl keçisi içinde kabul edilmiş, fakat Kıl keçisinden farklı morfolojik ve verim özelliklerine sahip olmasından dolayı ayrı bir ırk olarak tescil edilmiştir.

Günümüzde ise Honamlı melezleri Akdeniz bölgesinde Toros Dağları etekleri ile Antalya, Konya, Isparta arasında kalan bölgede yetiştirilen bir ırktır (Anonim, 2009). Ülkemiz için önemli olan bu keçilerle ilgili yapılan çalışma sayısı literatürde az olup, ülkemizdeki diğer kıl keçilerine göre et ve süt verimi daha yüksek olan bu ırkın morfolojik, fizyolojik ve moleküler genetik niteliklerinin bilinmesi ve korunması önemlidir.

Bu ırkın morfolojik, döl verimi ve büyüme özellikleri bakımından diğer yerli keçi ırklarımızdan daha üstün özelliklere sahip olması, ülkemizde yapılacak olan etçi ve sütçü keçi ıslahına yönelik çalışmalarda kullanılmasının önemlidir. Bunun yanında yetiştirildiği bölge şartları göz önüne alındığında gelecek nesillere bırakılacak değerli bir genetik miras olması nedeni ile korunması gereklidir (Karadağ O. 2018).

Keçiler değişen hava koşullarına, gün ışığı süresine bağlı poliöstrik hayvanlardır ve üreme faaliyetleri bunlarla ilişkilidir. Fertilite problemleri keçi sayısının azalması bakımından önem arz etmektedir. Üreme sistemi fizyolojik ve üreme döngüsündeki hormonal değişiklikler nedeniyle pek çok faktörün etkisi altındadır.

Nitrik oksit damar endotelinde vazoaktif maddeler üreterek vasküler tonus kontrolünde rol oynayan, aynı zamanda yörüngesinde eşleşmemiş elektron bulundurduğu için serbest radikal özelliği gösteren bir moleküldür.

Normal konsantrasyonlarda, tüm organ sistemlerinde farklı biyolojik etkileri olan NO, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve düz kasların relaksasyonunda etkili bir madde

olmasının yanında, ayrıca merkezi sinir sisteminde çeşitli işlevlerinin olması nörotransmitter olarak rol aldığını desteklemektedir (Lin ve ark. 2002). Periferde ise gastrointestinal, genitoüriner ve solunum ile ilgili çeşitli fonksiyonları düzenlemektedir. NO' nun, immunolojik reaksiyonlarda da görevi olduğu bilinmektedir. NO sentezindeki artış vazodilatasyona, dokuların oksijeninin artmasına sebep olabilirken bunun yanı sıra miyokard bozukluğuna ve dolaşım yetmezliğine de sebep olabilmektedir (MacAllister ve ark.,1996).

Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen (ROS) türleri nitrik oksitten türemektedir ve bu ürünlerin reproduktif organlarda çeşitli rollerinin olduğu bildirilmektedir. L argininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı sentezi gerçekleşmektedir (Dökmeci, 2000). NOS'un 3 enzim formu bulunmaktadır. Nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS), indüklenebilir NOS (iNOS)'dur. nNOS merkezi sinir sisteminde nörotransmitter /nöromodulator olarak görev yapmaktadır. eNOS aracılığı ile sentezlenen NO, damar tonusunun fizyolojik olarak düzenlenmesinde özellikle kan basıncı ve kan akımının ayarlanmasında önemli rol oynamaktadır. iNOS patolojik durumlarda makrofaj ve monositler tarafından üretilmektedir. iNOS'un bundan dolayı birçok patolojik durumda rol aldığı kabul edilmektedir (Lee ve ark., 1993).

Üreme organlarının önemli parçaları olan; damarlar, nöronlar, immun sistem hücreleri üretilen ve bir nörotransmitter rolü üstlenen NO'nun üreme sistemin fizyolojisi ve üreme sisteminin düzenlenmesinde önemli bir görev üstlendiği belirtilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar nitrik oksitin üreme sisteminin fizyolojisinde ve üremenin düzenlenmesinde büyük bir rol oynadığını ortaya koymuştur.

Nitrik oksitin üremenin hormonal düzeninde, gebelik sürecinde, doğum sırasında ve ovaryum fonksiyonlarının yerine getirilmesinde etkili olmaktadır. Gebelikle birlikte plazmada bulunan NO seviyesinin arttığı ve gebeliğin üçüncü ayına gelindiğinde ise en pik seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir (Atakişi ,2004).

ADMA, NOS enziminin geri dönüşümlü inhibisyonuna neden olur (Dayoub H. ve ark. 2003). ADMA; proteinlerdeki arjinin kalıntılarının Protein Arjinin Metil Transferaz enzimleri

(PRMT) tarafından metilasyonu sonucu oluşmaktadır. Asimetrik dimetilarginin (ADMA), nitrik oksit sentaz enzimlerinden esas olarak endojen nitrik oksit sentaz (eNOS) inhibitörü olarak görev almaktadır. ADMA, nitrik oksit oluşum hızını düzenlemektedir. Oksidatif stres çeşitli karmaşık mekanizmalarla endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Dolayısıyla azalmış NO sinyali çeşitli mekanizmalarla endotel disfonksiyonu oluşturmaktadır (Lu ve ark., 2003).

Normal protein turnover'ı neticesinde oluşan ve NOS enzimini inhibe eden ADMA ile NMMA'nın kontrollü olarak ortamdan uzaklaştırılmasını sağlayan DDAH enzimi, NO radikalının işlev gördüğü tepkimelerin sürdürülmesinde kritik önem taşır (Stuhlinger ve ark., 2002).

ADMA, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin substratı olan arginin ile yarışarak NO sentezini azaltır. Böylece sistemsel bozukluklara yol açar. NO oluşumundaki azalmanın, kan basıncını ve organ perfüzyonunu olumsuz etkilediği, hastalıkların oluşum riskini arttırdığı bildirilmiştir (Blackwell, 2009). Ayrıca ADMA'nın hücre içinde birikmesinin nitrik oksit üretimini azaltıp çoklu organ yetmezliğine sebep olabileceği belirtilmiştir (Nijveldt ve ark., 2003).

Hücrede oluşan serbest ADMA'nın çoğu hücre içinde sitrülün ve dimetilamine dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi aracılığıyla yıkılmaktadır. Hemen hemen tüm memeli hücrelerinde bulunan, dolayısıyla tüm vücut sıvılarında ve birçok dokuda serbest olarak dolaşan Dimetilarginin DimetilAminoHidrolaz (DDAH) enzimi, özellikle ADMA ve simetrik dimetilarginin (SDMA) gibi metil grubu bulunduran arjinin türevlerini yıkarak sitrüllin ve metilaminleri meydana getirir (Vallance ve ark., 2004). DDAH enzimi ile yıkım, renal ekskresyondan çok daha fazla önem arz etmektedir. Bu yüzden ADMA konsantrasyonunun başlıca düzenleyicisi DDAH enzimidir. Normal protein turnover'ı neticesinde oluşan ve NOS enzimini inhibe eden ADMA ile monomoteil arjininin (NMMA'nın) kontrollü olarak ortamdan uzaklaştırılmasını sağlayan DDAH enzimi, NO radikalının işlev gördüğü tepkimelerin sürdürülmesinde kritik önem taşır (Stuhlinger ve ark., 2002).

Homosistein (Hcy), metioninden S-adenosilmetionine bağlı olarak gerçekleşen birçok

transmetilasyon tepkimesinin sonucu olarak üretilen sülfür içeriği yüksek, toksik bir aminoasittir (Coffey ve ark., 2003). Homosisteinin, DDAH'ın aktif merkezindeki sistein ile etkileşimiyle DDAH aktivitesini azalttığı düşünülmektedir. Ayrıca homosistein, ADMA sentez yolağında metilasyon siklusunun bir parçası olarak yer almaktadır. Metabolik yolun bozulması, hücre içindeki homosisteinin artmasına neden olur. Artan homosistein, DDAH aktivitesinin inhibisyonunda doğrudan etkilidir (Holven ve ark., 2003).

Gebelik oluşumu ve gebeliğin devamı için ADMA düzeylerinin düşük seyretmesi gerekmektedir. Hcy DDAH enzim aktivasyonunu bozarak hücre içinde ADMA molekülünü arttırarak gebelik üzerinde olumsuz etki oluşturmaktadır.

Dişi reproduktif sistemi fizyolojik olarak pek çok faktörden etkilenebilmektedir. Reprodüktif süreçte oosit maturasyonu, ovulasyon, implantasyon, gebeliğin devamı ve doğum gibi fizyolojik olaylarda nitrik oksitin etkili olduğu kabul edilmektedir.

Nitrik oksit gebelik sırasında fetal homeostazın kilit düzenleyicisidir ve plasentadaki ana vazodilatör ajan olarak kabul edilir. Kardiyovasküler değişiklikleri, fetal gelişimi ve büyümeyi kolaylaştırmaktadır. Keçilerde nitrik oksitin üreme fonksiyonları üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tez çalışmasında nitrik oksit metabolizmasının önemli enzimlerinden olan iNOS ve DDAH enzim aktivitesi ve ADMA ve Homosistein düzeylerinin Honamlı ırkı melezlerinde fertiliteye etkisinin araştırılması hedeflenmektedir.

Honamlı melezi keçilerde gebe kalma üzerine iNOS ve DDAH enzim aktivitesi ve ADMA ve Homosistein düzeylerinin etkinliği belirlenerek literatüre kazandırılması ve elde edilen bu verilerin ileride yapılacak çalışmalarda kullanılarak sürü üreme sağlığına etkisinin belirlenmesinde referans elde edilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen referans değerleri ile gebe kalma oranına olası etkisinin belirlenmesi ile keçi sürülerinde verimin ve üreme kalitesinin arttırılması amaçlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Honamlı Keçisi

Ülkemizde kırmızı et ve süt ihtiyacını karşılamak için başlıca yetiştiriciliği yapılan sığır ve koyunun yanı sıra diğer tür ruminantlarla birlikte önemli sayıda keçi yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Bu amaçla bölgelerin iklim, mera ve coğrafi yapısına bağlı olarak farklı ırklarda (kıl keçisi, saanen keçisi, Ankara keçisi, Honamlı Keçisi vs) keçiler yetiştirilmektedir. Honamlı ırkı keçiler Batı Akdeniz Yöresinde (Teke Yöresi) konargöçer yörükler tarafından uzun yıllardır süre gelen yetiştirme tercihleri sonucunda oluşmuş ve saf ırk olarak günümüze kadar gelmiştir. Yayılım alanı olarak Antalya, Burdur, Isparta, Konya ve Mersin illerinde yaygın olarak bulunmaktadır.

Kış aylarında kışlak olarak nitelendirilen Toros dağları eteklerindeki köylerde, yazın yüksek rakımlı yaylalarda yetiştirilmektedir. Barınma koşulları genellikle ilkeldir kimi zaman etrafı çevrili üzeri sade kara örtü diye tabir edilen çalı çırpı bazen üstü açık kuzey rüzgârı almayan dağ etekleri barınak olarak kullanılmaktadır. Beslenmesi coğrafi yapının bitki örtüsü ile paralellik gösterir. Yaz aylarında orman alanlarından, meralardan, tek yıllık buğdaygiller ve türlerinin anızlarından yararlanır ve ek yemlemeye az ihtiyaç duyar. Kışları ise iklim koşullarına göre ek yemleme yapılmaktadır

Honamlı keçileri üzerinde yapılan çalışmalar sayıca oldukça azdır. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında ağırlıklı olarak genetik özelliklerinin tanımlanmasına yönelik çalışmalar olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalar Honamlı keçi ırkı ile ülkemizdeki mevcut kıl keçilerini kıyaslanıldığında, Honamlı ırkının daha üstün özelliklere sahip olduğu göstermiştir

2005 yılında bu ırk Hayvan Gen Kaynaklarının Korunması Proje kapsamında 2005/8503 sayılı tebliği ile Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü tarafından korumaya alınan yerli ırklar kategorisinde yer almaya başlamıştır. 29535 sayılı ve 17 Kasım 2015 tarihli Resmî gazetenin “Yerli Hayvan Irk ve Hatlarının Tescili Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2004/39) ve Tebliğ (Tebliğ No: 2015/43)” ile yeni bir keçi ırkı olarak tescil edilmiştir.

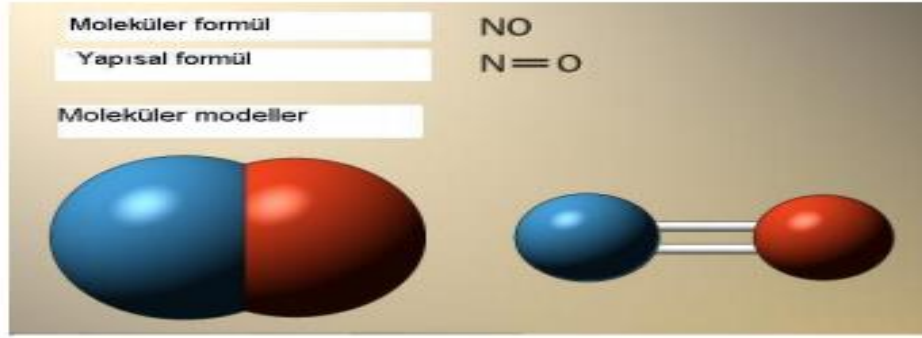
Honamlı keçisinde; fenotipik olarak ilk bakışta vucut konformasyonunun iri olması ve os nasale seviyesinde konveks burun yapısı dikkat çeker. İri yapılı uzun bacaklı ve yüksek cidago bir ırktır. Kaba ve ince kıllıdır ve yn verimi 500-600 gr civarındadır. Honamlı keçilerinin ortalama ilk damızlıkta kullanma yaşıları dişılerde ve erkeklerde 18-20 aydır. Vücud rengi genelde siyah olmakla birlikte gri, siyah beyaz alacada olabilmektedir. Kuyruk yapısı kıl keilerinden uzun ve püskül görünümündedir. Ortalama canlı ağırlıkları erkeklerde 82,9 dişılerde 64,7 ile iyi bir değere sahip kombina bir ırktır. Günlük süt verimleri beslemeye bağlı değişmekle birlikte ortalama 0,5-1,5 lt civarındır. Bir batımda doğan oğlak sayısı ortalama 1,3 ve ortalama oğlak doğum ağırlığı erkeklerde 3,8 kg, dişılerde 3.6 kg'dır (Saatci ve Elmaz,2017).



şekil 2.1. Honamlı Keçisi (Saatci ve Elmaz,2017).

2.2. Nitrik Oksit Tanımı

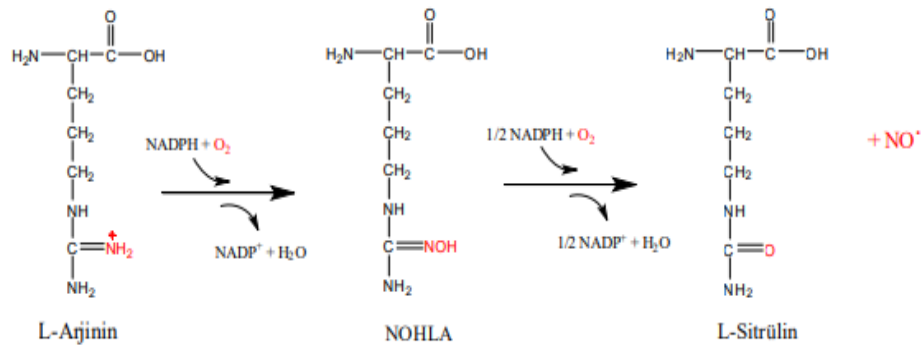
Nitrik oksit; NO kimyasal formülü ile gösterilen, azot ve oksijenin belirli oranlarda birleşmesiyle oluşan, gaz yapıda, renksiz bir moleküldür. Suda ve yağda çözünürlüğü yüksektir. Yapısında eşleşmemiş elektron bulundurduğu için serbest radikal özelliği vardır. Böylece reseptörlere bağlı olmadan hücre zarlarından kolaylıkla geçebilmektedir.



Şekil 2.2. Nitrik oksit moleküler modeli (www.deu.edu.tr/DEUWeb/Icerik.php)

NO, eşleşmemiş bir elektronu bulunduğu için diğer moleküllerle kovalent olarak bağlanma yeteneğine sahip serbest radikaldır. Serbest radikal olduğu için oldukça kısa yarı ömre sahiptir. Diğer serbest radikallerden nitrik oksiti ayıran özelliği ise nitrik oksitin düşük konsantrasyonlarının fizyolojik fonksiyonlarda önemli görevlerinin olmasıdır. Enzimatik reaksiyonlar sonucu oluşan NO, hücre içinde plazma membran proteinlerini aktive ederek ikincil haberci olarak davranarak, hücreler arasında bilgi taşınmasında rol alan nörotransmitterdir. NO, normal koşullarda sabit anyonik ürünleri olan nitrit ve nitrata okside olmaktadır (Aladağ ve ark., 2000.)

Kan basıncının, immün hücre işlevlerinin ve nöronal sinyal iletiminin düzenlenmesi gibi normal fizyolojik işlevlerde önemli bir biyomolekül olan NO, arjinininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile oluşturulmaktadır. Bu enzim, arjinini substrat ve tetrahidrobiopterini kofaktör olarak kullanarak nitrik oksit oluşum reaksiyonunu katalizlemektedir (Kone, 2004).

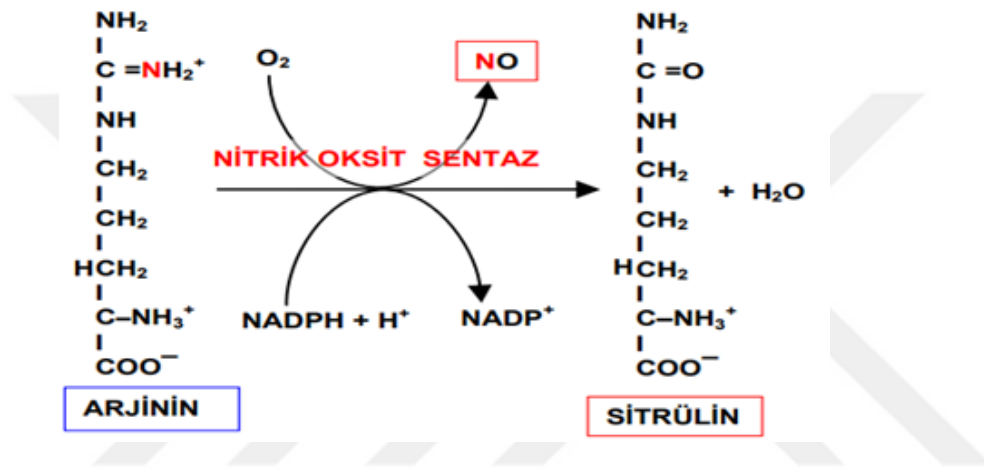


Şekil 2.3. Nitrik oksit sentezi (Çelik, 2020)

2.3. Nitrik Oksit Üretimi

Nitrik oksit depolanma özelliği olmayan bir moleküldür. Depolanma özelliği olmadığı için isteme yanıt olarak sentezlenmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2003).

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjinin'den sentezlenen güçlü bir vazodilatör ve serbest radikaldir (Khan ve ark., 2015).



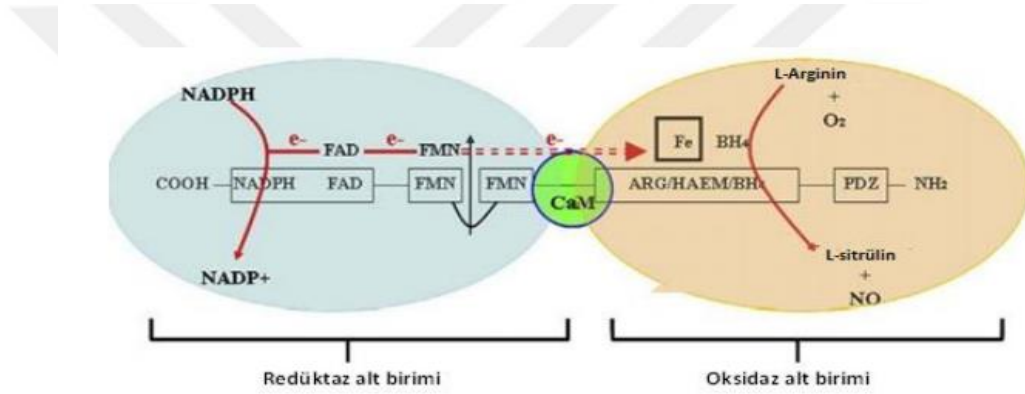
Şekil 2.4. L-Arjininden Nitrik Oksit Sentezi (Khan ve ark.,2015)

L-argininden NOS aracılığıyla L-sitrülin ve NO katalizlenir .Kataliz sırasında oksijen ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfatı (NADPH) substrat olarak; flavin adenin dinükleotit (FAD), flavin mononükleotit (FMN), tetrahidrobiyopterin (BH4), heme ve Ca^{2+} /kalmodulini ise kofaktör olarak kullanılır (Sharma ve ark.,2007).

NOS'un 3 farklı formu vardır. Bunlar; düşük miktarda vasküler tonüsü ayarlayan endotel izoenzimi (eNOS), sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen nöronal izoenzimi (nNOS) ve immün/inflamatuvar olaylarda rol alan ve immün cevapta etkili olan indüklenebilir izoenzimi (iNOS) dir. nNOS ve eNOS izoenzimleri NO üretimi için kalsiyum Ca^{2+} kalmodulin kompleksine bağımlıdır. iNOS ise bu kompleksten bağımsız işlev görmektedir (Lin ve ark., 2002).

İzoformların homodimer yapısı, üç farklı alanı bulundurmaktadır. Molekülün karboksi ucunda bulunan redüktaz alanı elektron transferinin gerçekleştiği bölümdür. Bu alan, Ca^{2+} kalmodulin, FAD, FMN ve NADPH moleküllerini içermektedir (Sharma ve ark., 2007).

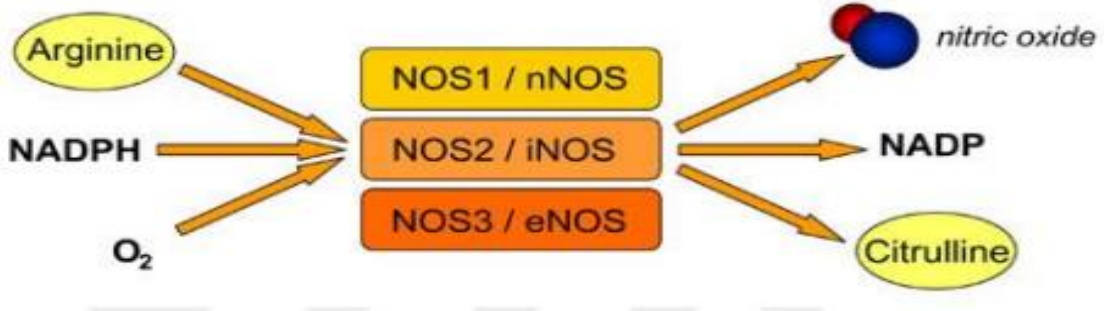
Redüktaz alanından terminal uçta bulunan oksijenaz alanına geçişte bulunan kalmodulin bağlama bölgesi tüm NOS'ların aktive olması için gereklidir. Bu sayede alanlar arası elektron akışı kolaylaşır. Terminal uçta bulunan oksijenaz alanı ise; L-arginin molekülünden nitrik oksit sentezinin gerçekleştiği kısımdır. Bu alan, BH₄, heme ve arginin için bağlanma bölgelerini bulundurmaktadır (Forstermann ve Sessa, 2012).



Şekil 2.5. NOS Sentez Mekanizması (Lefebvre, 2002).

Üç izoform da aynı reaksiyonu katalize etmektedir. Endotel hücrelerde kalsiyum kalmoduline bağlı bulunan NOS, asetil kolin gibi uyarıcılar tarafından aktifleştirilebilir. Aktifleşen NOS, arjinin'in oksidasyonu yoluyla NO ve L-sitruline dönüşmesini sağlamaktadır (Güray ve ark., 1997).

İlk aşamada, enzim L-arginin oksidasyonunu sağlayarak ara bileşik olan N-hidroksi-Larginini oluşturur, daha sonra N-hidroksi-Larginin L-sitrüline oksitlenir. Böylece NO sentezlenmiş olur (Lugowski ve ark., 2011). Bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için oksijene ve kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) 'a ihtiyaç vardır (Dixit ve Parvizi, 2001).



Şekil 2.6. NO sentez reaksiyonu (Wink ve Mitchell 1998).

2.4. Nitrik Oksit Sentaz

NADPH ve moleküler oksijen kullanarak L-Arjinin amino asitinin, nitrik oksit ve sitriline dönüşümünü sağlayan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ilk kez 1989 yılında tanımlanmıştır (Kılınç ve Kılınç, 2003).

Nitrik oksit sentaz enziminin farklı genler tarafından şifrelenen üç izoformu vardır. Bu izoformlar; nNOS, eNOS, iNOS'tur.

Bunlardan nöronal NOS (nNOS) nöronal sinyal iletiminde; vasküler endotelyumda bulunan endotelial NOS (eNOS) düz kasların gevşemesinde; indüklenebilir NOS (iNOS) ise makrofaj aracılı immün yanıtta yer almaktadır (MacAllister ve ark., 1996).

Yapısal olan NOS enzimleri kendi içinde iki alt başlıktan oluşmaktadır. Bunlardan birincisi temel olarak sinir sisteminde bulunan nöronal NOS (nNOS); ikincisi ise daha çok vasküler endotelde bulunan endotelial NOS (eNOS)'tur. Sitokin ve endotoksinler tarafından indüklenen NOS ise indüklenebilir NOS (iNOS) olarak tanımlanmaktadır (Krol ve Kepinska, 2020).

nNOS ve eNOS enzimlerinin aktive olabilmesi için Ca^{2+} gerekliken iNOS'un aktive

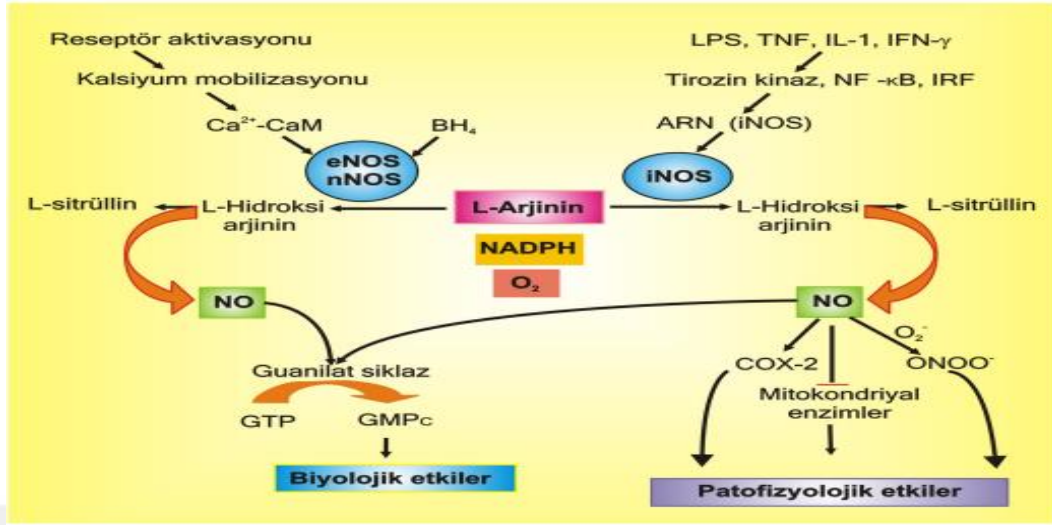
olması ise Ca^{2+} dan bağımsız bir şekilde gerçekleşir. Ayrıca nNOS ve eNOS protein fosforilasyonu ve diğer proteinler ile olan etkileşimler aracılığıyla düzenlenir. iNOS ise bu iki formdan farklı olarak düzenlenmektedir (Pfeilschifter ve ark., 2001).

nNOS, beyin ve periferik sinir sistemi için önemli olup, felç ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. Düz kasların regülasyonunda rol üstlenir (Krol ve Kepinska, 2020). Omurilikte, sempatik ganglionlarda, adrenal bezlerde, periferik sinirlerde, çeşitli organların epitel hücrelerinde, pankreas adacık hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerinde nNOS yer almaktadır. İskelet kası memelilerde nNOS için temel kaynaktır (Forstermann ve Sessa, 2012).

eNOS Ca^{2+} /kalmodulin kompleksine bağlı olarak düzenlenir. eNOS vasküler endotelyumda, kardiyak miyositlerde, trombositlerde, plasentada, böbrek tübül hücrelerinde NO üretiminde görev almaktadır. eNOS vasküler tonu, hücre proliferasyonu, lökosit yapışması ve trombosit agregasyonunun gibi biyolojik fonksiyonlarda görevlidir. eNOS lökosit adezyonunu inhibe ederek ateroskleroza önler ayrıca damarlarda vazodilatasyon oluşturmaktadır (Forstermann ve ark., 2012).

iNOS sentezi başlıca makrofajlar ve nötrofillerde gerçekleşir. Hücrelerde fizyolojik koşullarda iNOS olmamasına rağmen; lipopolisakkarit (LPS) gibi bakteriyel ürünler, interferon gama ($\text{IFN-}\gamma$), $\text{TNF-}\alpha$ veya interleokin-1 (IL-1) gibi proinflamatuvar sitokinlerle uyarıma bağlı aktive olmaktadır. NOS2 ekspresyonunu hücre içi kalsiyum (Ca^{2+})'dan bağımsızdır (Forstermann ve ark., 2011). iNOS tarafından sentezi gerçekleşen NO daha çok inflamatuvar cevaplarda sentezlenmektedir.

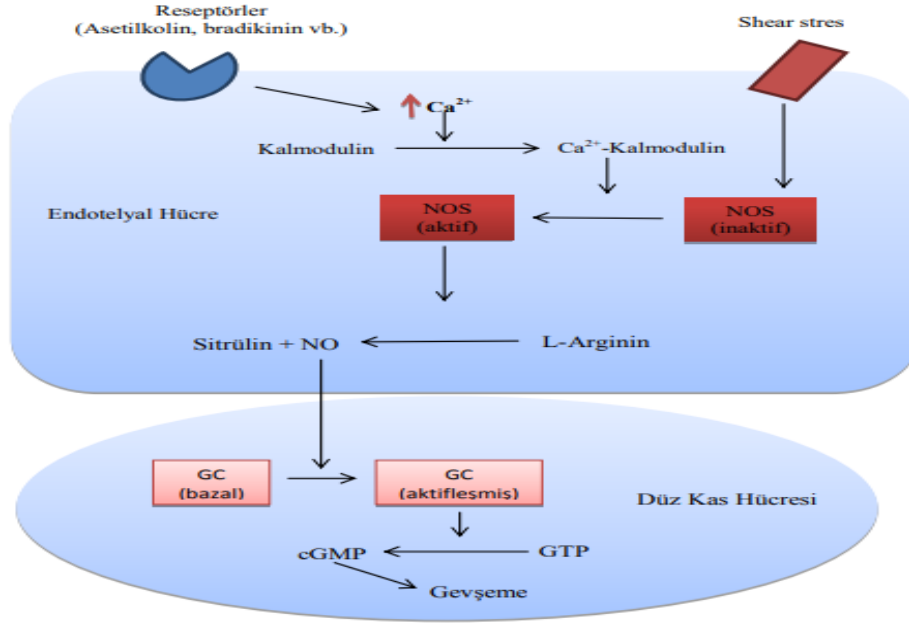
iNOS tarafından sentezlenen NO inflamatuvar hastalıklarda immün yanıt mekanizmalarında da yer alarak bağışıklık sistemi üzerine etki eder (Krol ve ark., 2020). iNOS'un konsantrasyonuna bağlı olarak tümör gelişimini metastaza sebep olarak destekleyici olabileceği gibi sitotoksik olarak baskılayıcı da olabilmektedir (Vannini ve ark., 2015). Ayrıca nöronal ölümü indükleyerek hipoksi oluşturur. iNOS'un fazla miktarda sentezi septik şoka sebep olabilmektedir (Brown ve ark., 2010).



Şekil 2.7. Nitrik oksit sentezi ve etkileri (MacAllister ve ark.,1996).

2.5. Nitrik Oksit Etki Mekanizması

Hormonlar, nörotransmitterler, büyüme faktörleri gibi maddeler hücreler arasındaki iletişimi genelde hücre zarındaki spesifik proteinlere bağlanarak bunun sonucunda, siklik adenosin monofosfatın (cAMP) artmasıyla sağlamış olurlar. Nitrik oksitin yağda eriyen bir madde olması ise hücre zarlarının da yine yağ moleküllerinden oluşmasından dolayı kolay bir şekilde geçişini sağlamış olur. Bu yönlenmeyle hedef molekülüne bağlanır. Doğrudan ya da enzim aktivitesini değiştirme yoluyla dolaylı olarak etkisini göstermiş olur. NO biyolojik aktivitesini temel olarak NO-aracılı cGMP bağımlı mekanizma veya cGMP bağımsız mekanizma olmak üzere 2 şekilde ortaya koymaktadır (Derici ve Demirel Yılmaz, 2017).



Şekil 2.8. Nitrik Oksit Salınım Mekanizması (Derici ve Demirel Yılmaz, 2017).

2.6. Nitrik Oksitin Organizmadaki Görevleri

NO molekülü ilk başta endotel kaynaklı gevşeme faktörü olarak tanımlanmıştır. Birçok biyolojik olayda önemli görevler üstlenir ve kısa yarı ömürlü bir serbest radikal olarak nitelendirilmektedir (Lin ve ark., 2002).

Oda sıcaklığında renksiz bir gaz olan NO, biyolojik sistemde sentezlenen en küçük moleküllerden biridir. Bu nedenle biyolojik zarlardan serbestçe geçebilen ve çeşitli fizyolojik fonksiyonlara katılan önemli bir sinyal molekülü işlevi görür (Nath ve Maitra 2018).

Nitrik oksit (NO), çeşitli biyolojik süreçlerde rol üstlenen biyoaktif bir maddedir.

NO'nun üstlendiği birçok farklı görevi ve etkisi vardır. Temel haberci maddelerden biridir. Hücre zarını geçerek proteinlere bağlanır ve böylece hücresel etkilerini gerçekleştirir (Aladağ ve ark., 2000).

Endotelden salgılanan en önemli vazodilatör maddelerden bir tanesidir. Vasküler

tonusun denetlenmesinde rol oynar. NO damar bütünlüğünün korunup bunun yanında damar tonusunun düzenlenmesinde de görev almaktadır (Stryer ve Lubert, 1995).

NO'nun görevleri arasında vasküler ve bronşiyal genişlemeyi sağlaması, trombosit agregasyonunu inhibe etmesi, mukus salgılanmasını desteklemesi, kan basıncını düzenlemesi yer alır (Lee ve ark.,2015).

Ayrıca öğrenme ve hafıza gibi bilişsel fonksiyonları sağlama görevleri de vardır (Chakroborty ve ark., 2015).

NO, ayrıca Ca^{2+} bağımlı K^{+} kanallarını aktive eder. Bu kanalların aktive olmasıyla birlikte hücre içi K^{+} düzeyi artar hiperpolarizasyona sebep olur. Böylece düz kas hücrelerinde gevşeme ve damarların dilate olması durumu meydana gelir (Bolotina ve ark., 1994).

DNA sentezinde görev alan ribonükleosiddifosfat redüktaz enzimi üzerinde nitrik oksitin etkisi vardır. Gen transkripsiyonu ve post-transkripsiyon işleminlerinin düzenlenmesini sağlar (Shami ve ark., 1995).

İstirahat durumunda kan akışının devamlılığı konusunda da etkilidir. Lokal ısı ve ultraviyole B ışınlarına karşı ciltteki vazodilatasyon yanıtı da sorumludur (Çelik, 2020).

NO ve glutamat miktarları arasındaki oran dengesinin, beyin gelişimi ve santral sinir sistemi üzerinde sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Parkinson ve Alzheimer ve gibi hastalıkların sebepleri arasında nitrik oksitin de etken olduğu bir fizyopatolojinin olabileceği düşünülmektedir (Çelik, 2020).

Glia hücreleri ve nöronlardaki NO sentezi, cGMP sentezi ve glutamat reseptör etkileşimi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu sebeplerden dolayı santral sinir sisteminde önemli bir nörotransmitter olarak kabul görmektedir (Higgs ve ark., 1991).

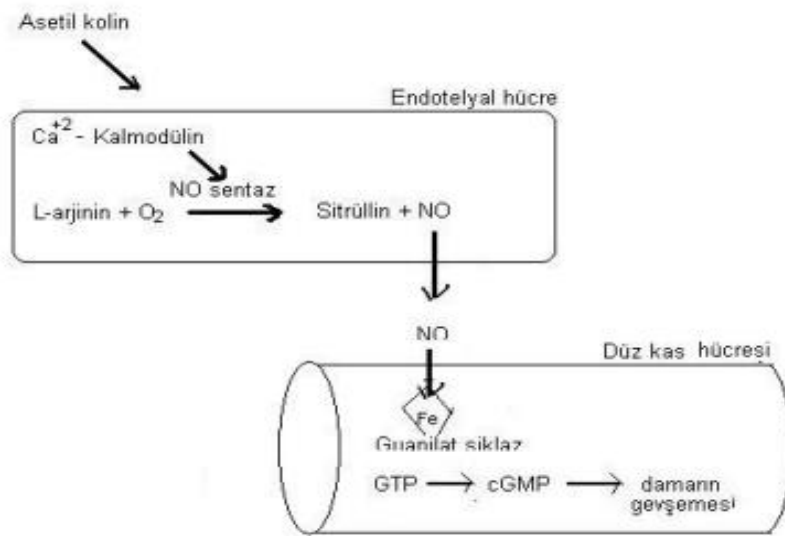
NO, lipid alkoksi ve peroksi radikalleri ile bileşikler oluşturarak bu yolla lipid

peroksidasyonunda zincir kırıcı görev yapabilmektedir. NO, bu işlevinden dolayı antioksidan özellik göstermektedir (Wink ve Mitchell, 1998).

NO ortamda oksijen bulunduğunda kararsız bir yapıdadır. Kararsız formundan dolayı tioller (R-SH), metaller (Fe^{2+}) ve süperoksit anyonu (O_2^-) olmak üzere çeşitli biyomoleküllerle tepkimeye girerek peroksinitrit ($ONOO^-$), S-nitrosotiyoller (RSNO), nitrojen dioksit (NO_2), dinitrojentrioksit (N_2O_3) ve dinitrosil-demir ara ürünlerini oluşturmaktadır (Jones ve ark., 2010).

NO'nun organizmasındaki bütün organ ve dokuları üzerinde, sinir sistemi ve öğrenme yeteneğinde (Garthwaite, 1991), kalp damar sisteminde (Kingwell, 2000), gastrointestinal sistem ve böbrek (Granger ve Alexander, 2000), deri (Weitzber ve Lundberg, 1998) ve üreme fonksiyonlarında (Roselli ve ark., 1998) önemli etkileri vardır.

Sentezlenen NO, difüzyonla vasküler düz kas hücrelerine geçer guanilat siklazı aktive eder cGMP oluşumunu sağlar. cGMP artışı ise kalsiyumun hücreye girişini azaltırken aynı zamanda kalsiyumun hücreden atılımını da artırır. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu azalır ve gevşeme ile vazodilatasyon gerçekleşmiş olur (Paige ve Jeffrey, 2007).



Şekil 2.9. Nitrik oksitin fizyolojik etkisi (Paige ve Jeffrey, 2007).

Tablo 2.1.Nitrik Oksit Fonksiyonları (Safçi S., 2014).

SİSTEMLER	NİTRİK OKSİT FONKSİYONLARI
Kalp Damar Sistemi	Tonik vazodilatasyon Damar duvarında hücre adezyonunun engellenmesi Angiogenez stimülasyonu Ateroskleroz oluşumunun gecikmesi
Beyin	Nörotransmisyon
Periferik Sinir Sistemi	Ağrı oluşumunun regülasyonu Bağırsak, genitoüriner sistem ve damarlardaki nonadrejenik, nonkolinerjik, nörotransmisyon
İmmün Sistem	Sitotoksiste İmmün hücre fonksiyonunun regülasyonu

Nitrik oksitin sistemler üzerindeki fonksiyonları tabloda gösterilmiştir

2.7. Gebelik ve NO

Nitrik oksit organizmada birçok hücre tarafından üretilerek düz kas hücrelerinin tonusunu, apoptozisini yapışmasını düzenler. Damar endotel hücrelerine endotel hücre bariyerini ve fonksiyonunu korumaktadır. Nöronlar, kan damarları üreme organlarının önemli birer parçalarıdır. Nöronlar tarafından üretilen ve bir nörotransmitter olarak görev alan NO'nun üreme sistemin fizyolojisi ve üremenin düzenlenmesinde önemli olduğu bilinmektedir (Roselli ve ark., 1998).



Şekil 2.10. NO'nun Üreme Üzerindeki Fonksiyonları (Roselli M. ve ark., 1998).

Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türleri nitrik oksitten türerler ve bu ürünlerin reproduktif organlarda çeşitli rollerinin olduğu bildirilmektedir.

eNOS'un ekspresyonu luteinizan hormon (LH) tarafından arttırılır. Nitrik oksit sentaz III, oositlerin olgunlaşması ve ovulasyon olayı ile ilişkilidir. Plazenta tarafından da üretilmektedir (Fujii ve ark., 2005).

Son yıllarda farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalar nitrik oksitin hayvanların üreme fonksiyonları üzerindeki önemli fonksiyonlarını ortaya çıkarmıştır (Basini ve ark., 2001).

Ratlarda yapılan bir çalışmada NOS inhibitörlerinin peritona verilmesiyle ovulasyonun inhibe edildiği gözlenmiş ve elde edilen bulgular NO'nun ovaryum hücreleri ve damarlarında üretildiği ve ovulasyonu düzenlendiğini ortaya çıkarmıştır (Shukovski ve Tsafirri, 1994).

Nitrik oksit gebelik sırasında fetal iç denge için önemli bir düzenleyicidir ve plasentadaki ana vazodilatörlerden biridir. Kardiyovasküler değişiklikleri, fetal gelişimi ve büyümeyi nitrik oksit kolay hale getirmektedir (Mullino ve ark., 2018). Uterus, gebelik sürecinin tamamında önemli yapısal değişimler geçirir. Çünkü NO düz kas hücrelerinin kasılmasını düzenler ve gebelikte uterusun kontraksiyonuna ve distansiyonuna sebep olmaktadır (Roselli ve ark., 1998).

2.8. Asimetrik Dimetil L-Arjinin (ADMA)

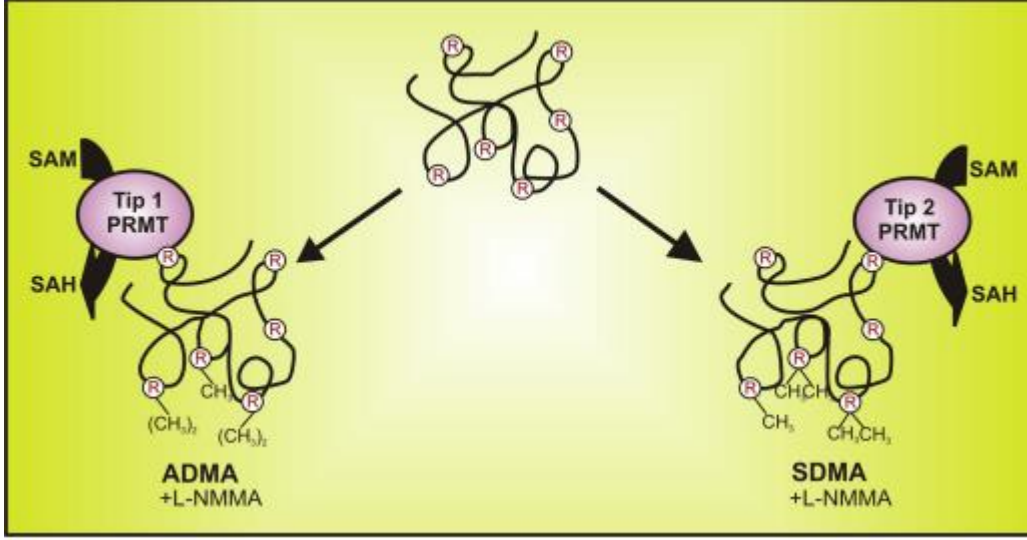
ADMA arjininle benzer özellik taşıyan plazmada, idrarda ve dokularda bulunabilen bir aminoasit çeşididir. Doğal bir yolla proteinlerdeki arjinin kalıntılarının metillenmesiyle oluşan ADMA nitrik oksit sentetaz inhibitörüdür. 1970'li yıllarda idrarla metillenmiş arjininler olarak atıldığı saptanmıştır. Genellikle nükleusta bulunan bu molekül metillenmiş proteinlerin katabolizması sonucu oluşmaktadır (Böger, 2005).

Arjinin esansiyel bir aminoasittir ve birçok biyolojik süreçte yer alır (Hsu ve Tain, 2019). Arjinin aminoasitinin NMonometil L-Arjinin (NMMA), Asimetrik Dimetil L-Arjinin (ADMA), Simetrik Dimetil L-Arjinin (SDMA) olmak üzere 3 tane metillenmiş formu vardır (Baylis, 2006). Bu türevler, proteinlerdeki arjinin kalıntılarının Protein Arjinin Metil Transferaz enzimleri (PRMT) tarafından metilasyonu sonucu oluşmaktadır (Maas, 2005). Bu işlemde metiyonin ve ATP' den sentezlenen S-Adenozilmetiyonin metil donörü olarak hizmet etmekte ve S-Adenozilhomosisteine daha sonra da homosisteine hidroliz olmaktadır. Homosisteinin remetilasyon yolağında yeniden metillenmesi ile metiyonin oluşmaktadır (Polotskaia ve ark., 2007).

Proteinlerdeki arjinin kalıntılarının metilasyonu, PRMT enzimlerinin katalize ettiği reaksiyon ile proteinin yapısında bulunan arjinin amino asidinin guanidino azotu veya azotlarına bir veya iki metil grubu eklenmesiyle gerçekleşmektedir (Vallance ve ark., 2004). PRMT enzimleriyle sağlanan bu metillenme olayı geri dönüşümsüz olarak gerçekleşmektedir. Metillenen proteinler nükleusta yer alırlar. Metillenmiş arjininlerin (ADMA, SDMA ve L-NMMA) endotel hücrelerine iletimi katyonik aminoasit taşıyıcısı (Y taşıyıcısı) vasıtasıyla olmaktadır. Bu üç metilarjinin hücreye girerken arjininle yarış halindedir. Bu yarıştan dolayı yüksek konsantrasyonda bulunan ADMA L-arjininin hücre içine taşınımına engel olarak NO sentezini azaltır (Valkonen ve Laaksonen, 2004).

İki tip PRMT enzimi vardır. Her ikisi de arjininin monometillenmesini sağlayarak NMMA oluşturabilir. İkinci bir metil grubu eklenmesi sonucu oluşacak ürün ise PRMT enziminin tipine bağımlı olarak değişmektedir (Welch ve ark.,1997).

Tip-1 PRMT enzimi, sadece bir guanidino azotunu dimetilleyerek ADMA oluşumunu; Tip-2 ise her iki guanidino azotlarını monometilleyerek SDMA oluşumunu katalizlemektedir (Vallance, 2001).



Şekil 2.11. Proteinlerdeki Arjinin Kalıntılarının PRMT ile Metilasyonu (Vallance ve ark.,2005).

Protein metilasyonu sonucu oluşan ve proteinin hidrolizi ile salıverilen ADMA ve NMMA nükleusta baskın olarak bulunmaktadır (Tran ve ark., 2003).

L-NMMA ve ADMA, NOS enzimlerinin geri dönüşümlü ve yarışmalı inhibitörleridir (Dayoub ve ark., 2003). Çeşitli memeli türlerinde L-NMMA ve ADMA' nın endojen NOS düzenleyici olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Dowling ve ark.,1998).

SDMA, ADMA'nın stereoizomeridir. SDMA'nın NO sentezi üzerine inhibitör etkisi direkt bulunmamaktadır. Plazma ADMA düzeyi, L-NMMA düzeyine göre 10 kat daha fazla bulunmaktadır. NO biyosentezinin en büyük inhibitörü ADMA'dır (Sürmeli, 2013).

ADMA'nın NO biyosentezinin baskın olan inhibitörü olmasının sebebi ADMA

konsantrasyonunun NMMA konsantrasyonundan 10 kat daha yüksek olarak bulunmasıdır. ADMA düzeyi arttıkça ters orantılı olarak NO sentezinde azalma gözlenmektedir (Aydın ve ark., 2013).

ADMA büyük bir kısmı sentezlendiği hücrede dimetilarginin dimetilamino hidrolaz (DDAH) enzimlerince yıkılarak hemen ortamdan uzaklaştırılır. Düşük bir düzeyi ise kan dolaşımına sızabilmektedir (Colonna ve ark.,2009).

DDAH enzim aktivitesi sonucu ADMA ileriki reaksiyonlarda kullanılmak üzere sitrullin ve dimetilamine yıkılır. Bu katabolizasyon renal eksresyondan daha önemlidir. Çünkü günlük oluşan ADMA düzeyinin yaklaşık %80'i bu yolla elimine edilmektedir. Dolayısıyla DDAH enzimi metilarginin miktarının başlıca belirleyicisidir. Net ADMA miktarı; arginin metilasyonu, metillenmiş proteinlerin hidroliz edilmesi, ADMA 'nın DDAH tarafından yıkımı sonrasında idrarla atılım oranları arasındaki dengeye bağlıdır. Bu denge bozulursa ADMA dokularda artmaktadır (Colonna ve ark., 2009).

ADMA Nitrik oksit (NO) sentezini azaltarak endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına ve böylece endotelial disfonksiyona sebep olmaktadır.

Oksidatif stres de DDHA'nın seviyesini azaltmak suretiyle ADMA'nın kanda artmasına yol açmaktadır (Nabity ve ark., 2015). Enzim aktivitesini İnflamasyon ve oksidatif stres gibi durumlar azaltır. Oksidatif stres, oksidan sistem yönünde dengenin bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkmasıyla birlikte hücrede hasar oluşumu durumudur. Oksidatif stresi arttıran birçok hastalıkta ADMA düzeyinin yüksek olduğu saptanmıştır (Aydın ve ark., 2013).

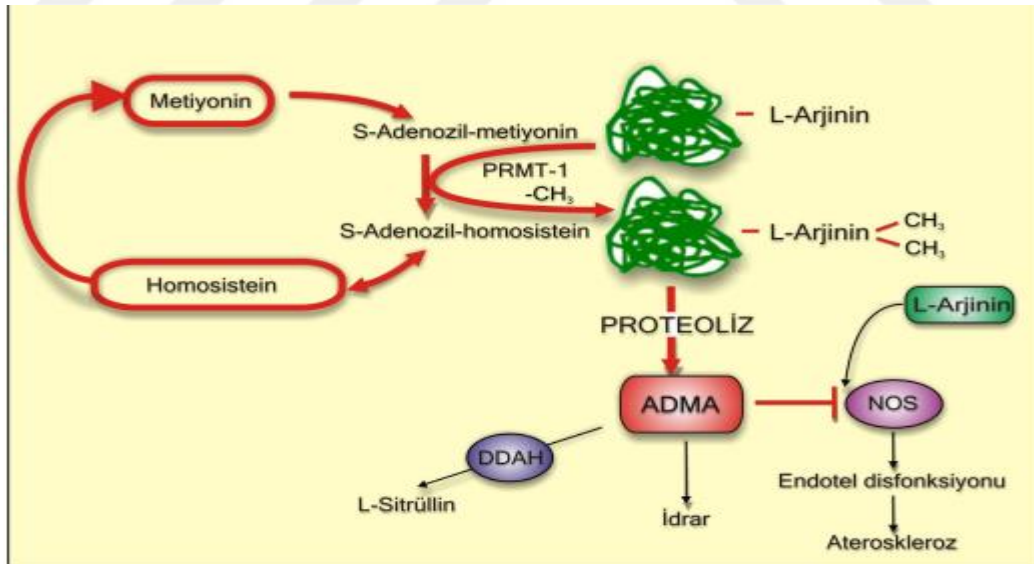
DDAH enziminin inaktive olduğu durumlarda ADMA eliminasyonu bozulur bu da ADMA seviyesinin artmasına ters orantılı olarak da NO seviyesinin azalmasına neden olur (Sibal ve ark., 2010). Her iki izoenzimde böbrek ve karaciğerde yüksek miktarlarda eksprese edilmektedir. ADMA ve SDMA, vücuttan üriner atılım yolu ile uzaklaştırılmaktadır.

2.9.ADMA'nın Biyosentezi

Proteinlerin arjinin rezidülerinin metillenmesiyle metil arjinin türevleri meydana gelmektedir. Bu metilasyon reaksiyonun gerçekleşmesini Protein Arjinin 36 Metil Transferaz (PRMT) enzimi katalizlemektedir. Bu reaksiyonlar sırasında, PRMT grubu enzimlerin metil kaynağı ise S-adenozil metioyoninidir (Sibal ve ark., 2010).

NG monometil-L-arginin (LNMA) ve NG, NG-dimetil-L-arginin (ADMA) oluşumunu katalize eden PRMT-1'dir. PRMT-2, proteinlerden NG, NG-dimetil-Larjinin (simetrik dimetil ADMA arginin; SDMA) ve L-NMMA 'nın oluşumunu sağlamaktadır (Vallance ve ark., 2004).

ADMA, SDMA ve L-NMMA aminoasit taşıyıcısı (y⁺ taşıyıcısı) aracılığıyla hücre içine girmektedir. Hücreye girebilmek için 3 madde arjininle yarışır. ADMA seviyesinin artması L-arjininin hücre içine taşınmasını engel olarak NO sentezini baskılamaktadır (Beltowski ve Kedra, 2006).



Şekil 2.12. ADMA Biyosentezi ve Metabolizması (Baylis,2006).

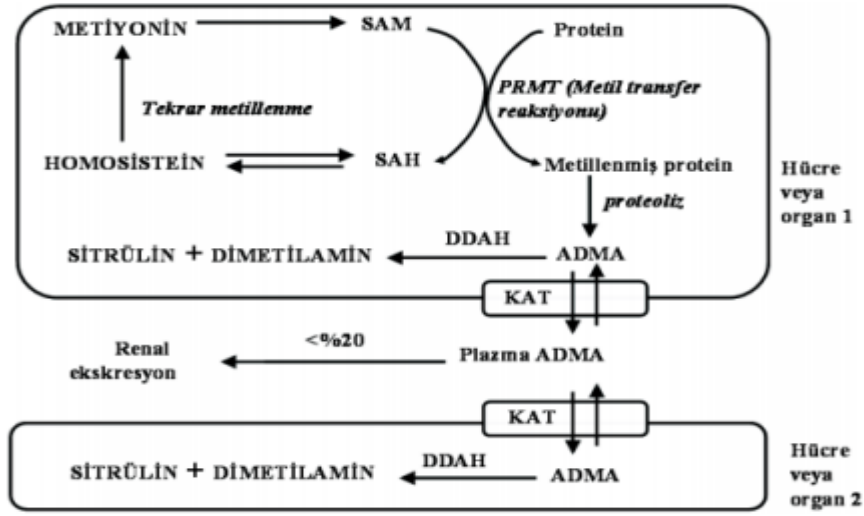
2.10.ADMA Metabolizması

Dimetilarjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enzimi ADMA ve L-NMMA'nın metabolizmasında etkin olarak rol oynar. DDAH metilarjininleri sitrülin ve dimetilamine veya monometilamine parçalamaktadır. DDAH enziminin iki farklı türevi bulunmaktadır (Hu ve ark., 2006).

 zoformlar gen yapısı ve enzim aktivitesi özelliklerine göre benzerdirler. Aralarındaki fark farklı dokularda bulunmalarıdır. DDAH1 enzimi nNOS eksprese eden dokular olarak bildiğimiz beyin, karaciğer, adrenal bez, testis ve böbrekte daha çok sentezlenir. DDAH 2 enzimi, kalp, aorta, plesanta gibi endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'u daha fazla eksprese eden dokularda yer almaktadır (Nijveldt ve ark., 2004).

DDAH enziminin inhibe olması ADMA konsantrasyonunu arttırır. ADMA konsantrasyonunun da artması NO üretimini inhibe eder. DDAH aktivitesi ve seviyesi oksidatif strese karşı duyarlıdır.  nflamasyon ve oksidatif stres altında DDAH aktivitesinde azalmalar meydana gelir. DDAH aktivitesinin azalmasını sağlayan bir diğer sebep TNF  veya okside LDL ile indüklenen oksidatif strestir. DDAH enziminde meydana gelen bir inaktivasyon ADMA eliminasyonunda bir bozulmaya bu da ADMA seviyelerinin artmasına sonuç olarak ise NO üretiminin azalışların görülmesine sebep olur (Wang ve ark.,2006).

SDMA'nın tamamı renal yolla atılır fakat ADMA ve L-NMMA yaygın olarak metabolize edilerek uzaklaştırılır. En önemli metabolik yol ise DDAH enzimiyle sitrülin ve dimetilamine yıkılmasıdır (Ogawa ve ark., 1989, Vallance ve ark 2004).



Şekil 2.13. ADMA metabolizması (Erbil M. ve ark. 2012).

2.11.ADMA ve NO

NOS inhibitörlerinden en önemlilerinden biri ADMA olarak bilinmektedir (Dusting, 1996).

ADMA aminoasiti hem plazmada hem hücrede bulunur. İdrarla atılır. Yüksek konsantrasyonlarda NO, O₂ ile veya süperoksit anyon (O₂⁻) ile reaksiyona girerek reaktif nitrojen-oksijen radikallerini (RNOS) oluşturur. Hücrelerde lipid peroksidasyonu, DNA fragmentasyonu, plazma antioksidanlarının azalması, protein hasarı ve endotelial düz kas gevşemesi gibi yollarla hücresel hasarları oluşturur (Nathan ve Xie, 1994).

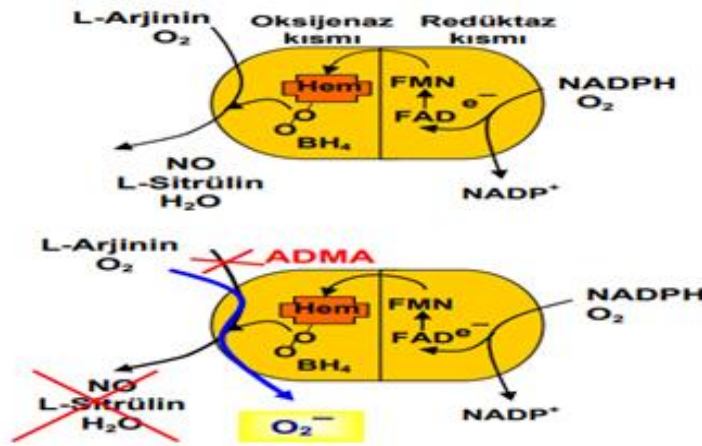
Nitrik oksit (NO) vasküler endotel hücrelerce üretilir ve kardiyovasküler sistemin regülatör mekanizmalarının temelinde görev almaktadır. Vasküler yapının korunması, kan damarlarındaki hücreler arası etkileşimin sağlanması ve vazodilatasyon mediyatörü olması gibi birçok önemli işleve sahiptir. L-argininden, nitrik oksit sentaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon sonucu oluşmaktadır. Endotel hücrelerinde sentezlenen NOS ‘un ana izoformu olan eNOS bu fonksiyondan sorumludur. ADMA bu nitrik oksit sentaz enziminin yarışmalı inhibitörüdür. Yüksek plazma ADMA konsantrasyonunun nitrik oksit sentaz enzimini (NOS) inhibe ettiği ve bu düzeyin bazı vasküler hastalıklarla ilişkisi bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca

intra-arteriyel olarak infüze edildiğinde lokal vazokonstriksiyona da neden olmaktadır (Yılmaz, 2005).

NO fizyolojik sınırlarda bulunuyorsa hücresel fonksiyonları düzenler. NO miktarı yüksek konsantrasyonlarda bulunuyorsa eğer hücreleri oluşturan bileşenlerde hasar oluşturabilmektedir (Bivalacqua ve ark., 2002).

Asimetrik dimetilarginini (ADMA) diğer iki izoformundan ayıran özelliği nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin en önemli inhibitörlerinden birisi olmasıdır (Teerlink ve ark., 2002). NO sentezini azaltmasından dolayı ADMA endotel disfonksiyonu için bir risk faktörüdür.

ADMA 'nın stereoizomerlerinin NO sentezi üzerine direkt etkileri olmadığı bilinmektedir. Ancak düşük bir ihtimalle L-NMMA 'nın direkt, SDMA 'nın indirekt bir etkisi olabileceği düşünülmektedir. Dolaşımdaki ADMA seviyesi temelde iki enzimin aktivitesi ile düzenlenmektedir. Bunlardan ilki protein arginin metil transferazdır (PRMT). İkincisi ise serbest ADMA 'nın yaklaşık %80'inin katabolizmasından sorumlu dimetil arginin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enzimidir. Vücutta sürekli bir ADMA üretimi söz konusu olup bu enzim ADMA'ya özgüdür ve diğer izoformları dönüşüme uğratmaz (Teerlink,2002).



Şekil 2.14. ADMA tarafından NOS enziminin inhibe edilmesi (Böger,2003).

2.12. Dimetilarjinin DimetilAminoHidrolaz (DDAH) Enzimi

DDAH (Dimetilarjinin DimetilAminoHidrolaz) bir molekül ADMA'nın bir molekül sitrüllin ve bir molekül dimetilamine metabolizmasını katalizleyen bir enzimdir (Ogawa ve ark., 1987). Ogawa ve ark. ADMA ve NMMA'yı metilamin veya dimetilamine hidroliz ederek NOS aktivitesini düzenleyen DDAH enzimini ilk kez 1987'de tanımlamışlar (Ogawa ve ark., 1987). 1999 yılında ise bakteri, koyun, fare, sıçan ve insanlarda eksprese edilen iki DDAH izoenziminin olduğunu açıklanmıştır (Leiper ve ark., 1999). DDAH ve NOS izoenzimlerinin böbrek ve kan damarlarında farklı bölgelerde eksprese edildiğini belirtmişlerdir. DDAH ve NOS'un ikisinin de eksprese edildiği hücrelerde NO aktivitesi, DDAH ile regüle edilen hücresel ADMA konsantrasyonundaki değişimler ile düzenlenmektedir (Wang ve ark., 2007).

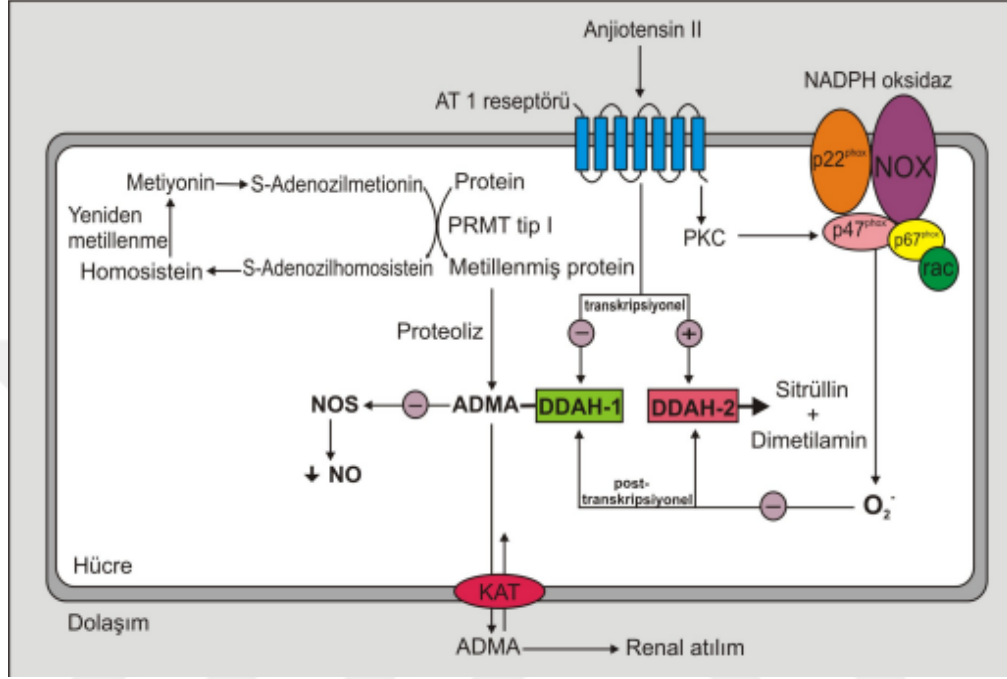
DDAH hücre içindeki ADMA'yı metabolize etmekte, fakat SDMA'yı metabolize edememektedir. DDAH'ın ADMA'ya olan spesifik aktivitesi moleküler yapısı ile ilgili bir durumdur (Leiper ve ark., 1999).

Memelilerde ADMA ve NMMA konsantrasyonları iki tane DDAH izoenzimi ile düzenlenmektedir. DDAH1 ve DDAH2 olmak üzere iki izoformu bulunan bu enzimin dokulardaki lokasyonu da farklıdır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda bu enzimlerin karaciğer, böbrek, iskelet kası, 3 kalp, pankreas, akciğer ve hatta plasentada bile varlığı saptanmıştır. Buradan hareketle ADMA eliminasyonunun sağlıklı bir organizma için gerekli olduğu sonucu çıkarılmaktadır.

DDAH1 enzimi Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)'un yoğun olarak bulunduğu beyin, karaciğer, adrenal bez, testis ve böbrek gibi dokularda bulunurken; DDAH 2 enzimi kalp, aorta, plasenta gibi Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) ve indüklenebilir Nitrik oksit Sentaz (iNOS)'ın yoğun olarak bulunduğu yerlerde yüksek miktarda bulunmaktadır (Tousoulis ve ark., 2015).

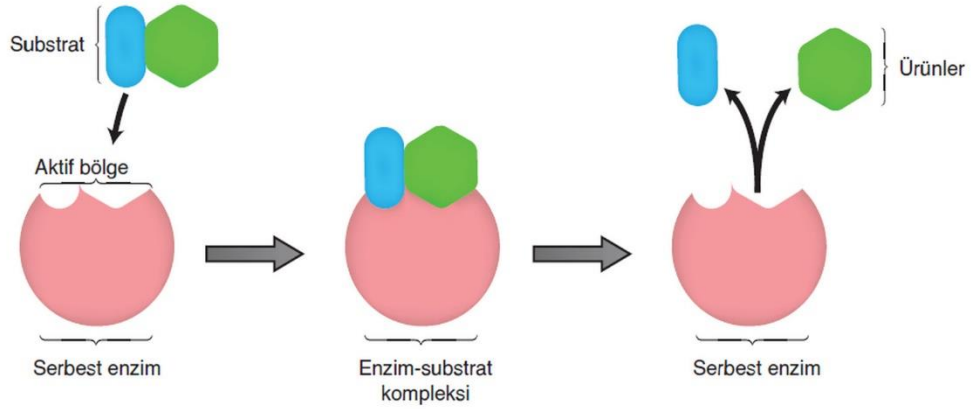
DDAH'ın her iki izoformunun ekspres edildiği yer vasküler endotelyumdur. DDAH 1'i kodlayan gen 1. kromozomda lokalize olmuş iken DDAH 2'yi kodlayan gen 6. kromozomda lokalize olarak bulunmaktadır. Bu izoformların aktiviteleri aynıyken doku dağılımları farklılık

göstermektedir. DDAH 1 ekspresyonu ile nöral NOS arasında, DDAH 2 ile endotelial NOS (eNOS) arasında bir ilişki bulunmaktadır (Cooke ve ark., 2000, Tran ve ark., 2000).



Şekil 2.15. DDAH İzofomları (Ito ve ark.,1999).

DDAH-1 üzerinde bir substrat bağlanma cebi tanımlanmıştır (Murray-Rust ve ark., 2001). Bu cep, ADMA'nın yan zincirindeki metillenmemiş azotun girebildiği küçük bir pordur. Substrat bağlandıktan sonra por kapanarak aktif bölge cebinde ADMA'nın (CH₂)₃ – zincirleri ile Phe75 (Fenilalanin 75) arasında hidrofobik etkileşimler meydana gelmektedir. SDMA'nın iki azotunda da metil grupları bulunduğu için sterik ve elektrostatik olarak DDAH'ın bu asidik cebine bağlanması mümkün değildir (Knipp, 2006).



Şekil 2.16. Enzim-Substrat Bağlanma Cebi (Joshi ve ark.,2007).

İkinci bir DDAH izoenzimi olan DDAH-2'nin ekspresyonunun dokunun toplam DDAH aktivitesinin minör fraksiyonunu oluşturduğu bildirilmektedir (Leiper ve ark., 1999). Fakat DDAH-2'nin NO biyoaktivitesini belirleyen endotel hücrelerinde baskın olarak bulunduğunu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2007).

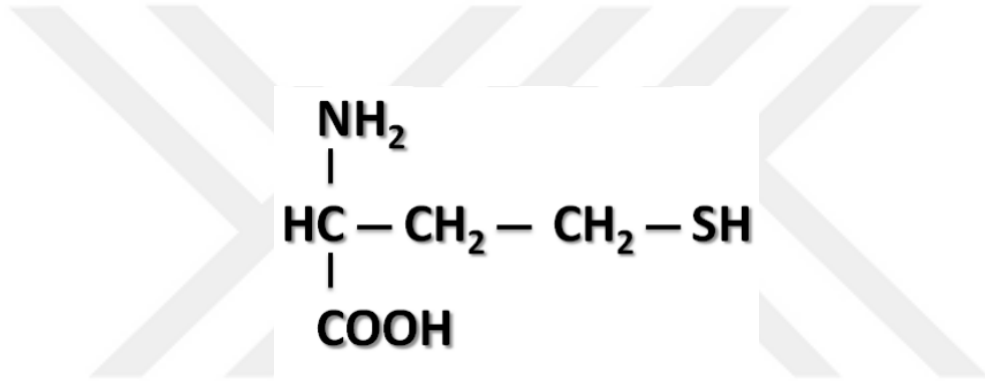
DDAH geni, NOS geni ile aynı bölgelerde eksprese edilmektedir. DDAH-1 beyin gibi nNOS'un eksprese edildiği bölgelerde, DDAH-2 ise eNOS eksprese eden endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir (Leiper ve ark., 1999).

ADMA hem hücreden salınmakta hem de hücrelere alınmaktadır. Bütün hücrelerde oluşan ADMA, hücre içinde DDAH enzimi ile sitrüllin ve dimetilamine metabolize olmakta veya y^+ taşıyıcıları ile hücre içinden plazmaya taşınmaktadır. ADMA'nın büyük bir kısmı DDAH-1 ekspresyonunun fazla olduğu karaciğer ve böbrekler tarafından metabolize olmakta, az bir kısmı da böbrekler tarafından atılmaktadır (Teerlink, 2005).

2.13. Homosistein

Homosistein 1933 idrar kesesi taşlarından izole edilerek keşfedilmiş olup sülfhidril grubu içeren ve protein yapısına katılmayan bir aminoasittir (Bing,1982).

Aynı zamanda nükleotid ve amino asit biyosentezi için tek karbon birimleri sağlayan tek karbon/folat döngüsü ile metiyoninin (Met) yeniden üretildiği ve sisteinin (Cys) olduğu kükürt içeren amino asitlerin metabolizması gibi iki önemli metabolik yolun birleştiği noktada yer alan bir ara madde olarak da tanımlanabilir (Jakubowski, 2019).



Şekil 2.17. Homosisteinin Yapısı (Bing,1982).

Vücudumuzda bilinen tek homosistein kaynağı, diyetle birlikte alınan endojen protein kaynağı olan metiyonin amino asididir. Met ve Cys, ribozomlar tarafından proteinlere katılan genetik olarak kodlanmış kanonik amino asitler olmakla birlikte, homosistein genetik koda katılmaz ve proteinojenik olmayan bir amino asit olarak kabul edilir (Jakubowski, 2019).

Bununla birlikte, homosistein genetik olarak kodlanmış bir amino asit olmamasına rağmen, proteinler homosistein kalıntıları taşıyabilir. Homosistein, bir proteine bir izopeptid bağı yoluyla lizin (Lys) rezidülerine (N-Hcy-protein) veya bir disülfür bağı ile Cys rezidülerine (S-Hcyprotein) bağlanabilir. N-Hcy-proteininin, yani protein N-homosisteinilasyonun oluşumu, homosistein için benzersiz ve spesifiktir, çünkü modifikasyonu sağlayan metabolit olan Hcy-tiyolakton sadece homosistein' den kaynaklanabilir. Aksine, SHcy-proteininin oluşumu, yani protein S- homosisteinilasyonu veya daha genel olarak S-tiyolasyonu,

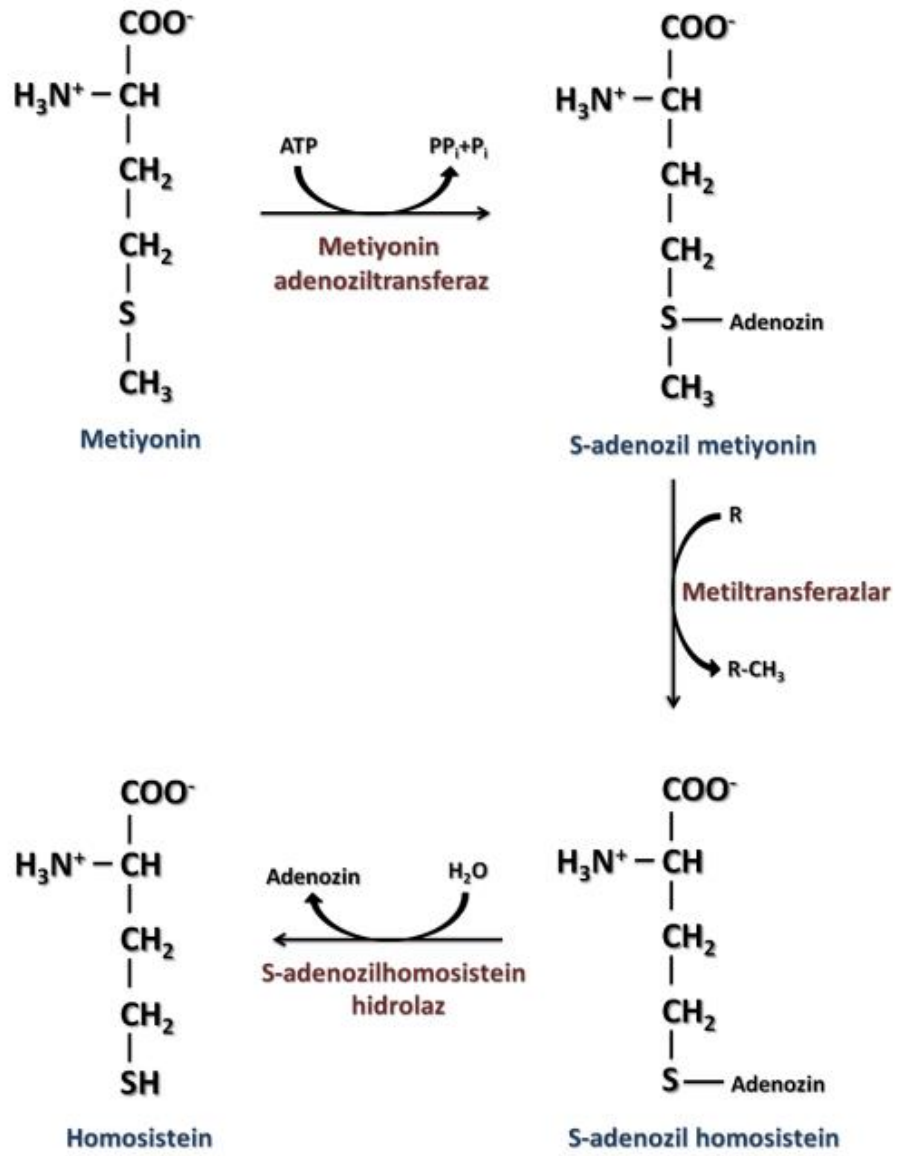
homosistein için spesifik değildir (Jakubowski, 2019).

Homosisteinin vücuttaki işlevi bir ara metabolit olmasıdır. Metiyonin, önemli bir antioksidan olan glutatyona dönüşürken homosistein bir ara ürün olarak meydana gelmektedir. Oluşan homosistein hücrelerimizde önemli bir biyokimyasal yol olan metilasyon döngüsünün önemli bir parçasıdır. Yapısında bulunan sülfhidril (tiyol) grubu ile çeşitli disülfür formlarına okside olabildiği ve plazmada büyük bir kısmının (%80'nin) disülfür köprüleri ile proteine bağlı olduğu ayrıca homosisteinin metiyonine, glutatyona ve S-adenozil L-Metiyonine dönüşebildiği de bildirilmektedir (Ledda ve ark., 2019).

2.14. Homosistein Metabolizması

Homosistein (Hcy), diyetle bulunan bir esansiyel aminoasit olan metioninin metiyoninden terminal metil grubunun ayrılmasıyla oluşan dört karbonlu bir aminoasittir. Metiyonin metabolizmasının toksik, kükürt içeren bir ara maddesidir. Proteinlerde bulunmayan bir ara amino asittir (Lehotský ve ark., 2016).

Sülfür içeren bu aminoasit, transsülfürasyon veya remetilasyon yollarından birini kullanarak metabolize olmaktadır. Vücuttaki homosisteinin büyük bir kısmı remetilasyon ile metionine dönüşerek esansiyel aminoasit olan metioninin vücut içinde tutulmasını sağlar. Homosistein diyetle alınamadığı gibi proteinlerin yapısına da katılamaz. Plazmada %1-2 oranında serbest olarak bulunur ve %80-90 oranında plazmada proteinlere bağlanır (Lehotský ve ark., 2016).



Şekil 2.18. Homosistein oluşumu (Mineer ve ark., 1997).

Plazmada homosistein dört formda bulunur (Gauthier ve ark., 2003).

1-Serbest form %1-2

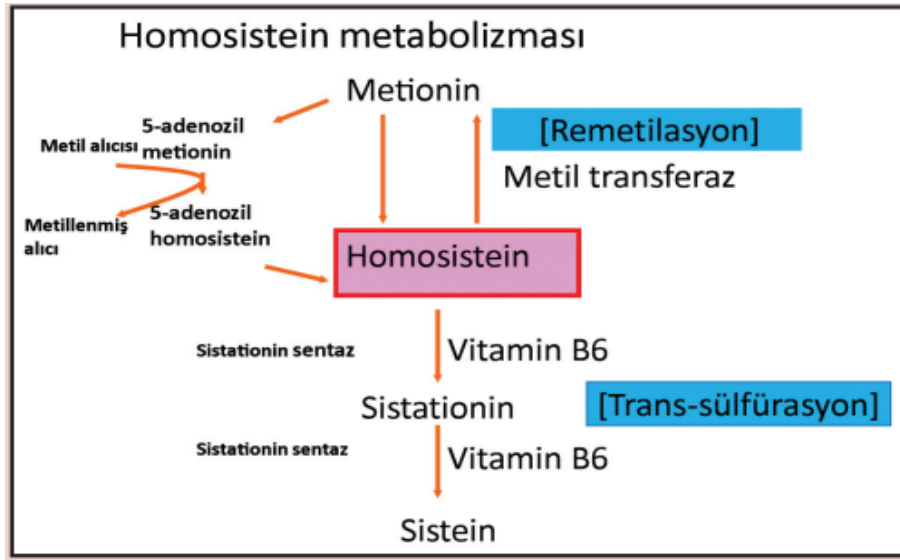
2-Plazma proteinlerine bağlı (özellikle de albumine bağlı) form % 70-80,

3-Homosistein dimerleri oluşturmak üzere kendi kendisine bağlı form %20-30

4- Tiol yapılarıyla birleşmiş homosistein-sistein karışımı disülfid formdur

Metioninden homosistein biyosentezi çok basamaklı süreçler sonucunda gerçekleşir. İlk olarak metionin ATP'den adenzin alır. S-adenozilmetionin-sentetaz tarafından katalize edilen bu reaksiyon sonucunda S-adenozilmetionin (SAM) elde edilir. SAM ise tepkimelerde metil donörü olarak görev yapar. Adenzin daha sonra L-Homosisteine hidrolize olur.

Homosisteinin metabolize edilmesinde remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere iki farklı yol tanımlanmaktadır. Metiyoninden homosisteine dönüşen ilk aşamaya transmetilasyon adı verilmektedir. Bir kez homosistein meydana geldikten remetilasyon yolu ile yeniden metiyonine dönüşebilir ya da transsülfürasyon yolu ile sistatyonin ve sisteine metabolize olabilmektedir (Kumar ve ark., 2017).



Şekil 2.19. Homosistein Metabolizması (Kumar ve ark., 2017).

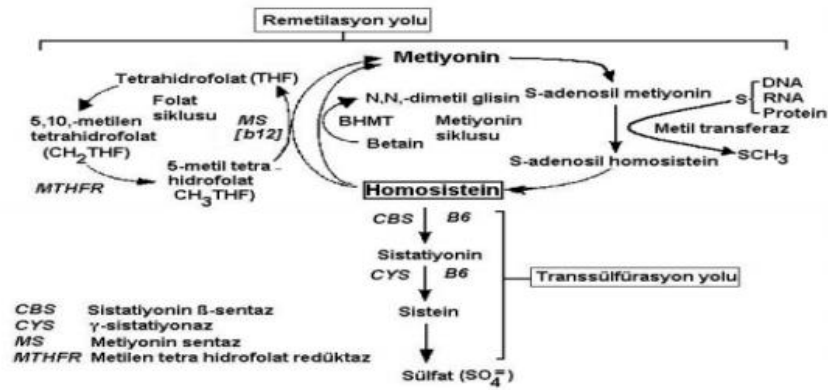
Bu tepkimelerde;

1-) Vitamin B12 kofaktör olarak kullanılarak tetrahidrofolat aracılığıyla homosisteinin metionine yeniden metillenmesi (remetilasyon)

2-) Vitamin B6 kofaktör olarak kullanılarak homosisteinin sisteine dönüşmesi (transsülfürasyon) Protein alımının düştüğü durumlarda, remetilasyon yolu ile homosistein metionine metabolize olur. Ancak ortamda fazla metioninin olduğu durumlarda sistein sentezine ihtiyaç varsa homosistein transsülfürasyon yoluna girer (Blom ve Smulders, 2011).

B12 bağımlı bir reaksiyon olan remetilasyonda, homosistein metil vericisi olan N-5-metiltetrahidrofolat (MTHF) 'dan veya betainden metil grubunu alarak metionin oluşturur. Transsülfürasyonda ise homosistein sistatyonin betasentetaz enzimi aracılığı ile serinle birleşerek sistatyonini oluşturur. Daha sonra oluşan bu sistatyonin sisteine hidrolize edilir. Bu reaksiyon zinciri ise B6 bağımlıdır (Blom ve Smulders, 2011).

Oluşan sistein ise daha sonra glutatyona veya sülfata metabolize edilir ve idrar yoluyla vücuttan atılır. Bu reaksiyonlarda kullanılan kofaktör eksiklikleri ve genetik enzim defektleri homosisteinin kan düzeyinin artmasına neden olur (Stampfer ve ark., 1992).



Şekil 2.20. Homosistein metabolizma yolağı (Blom ve Smulders,2011).

2.15. Homosistein, ADMA, NO, DDAH İlişkisi

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) NO için en önemli düzenleyici aminoasitlerden biridir. ADMA düzeyindeki artışın, endotel disfonksiyonunun derecesi ile doğru orantılı bir korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Tran ve ark., 2003).

ADMA, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından L-sitrüline ve dimetilamine parçalanmaktadır (Vallance ve ark., 1992). DDAH fonksiyon yetersizliği görülüyorsa eğer ADMA düzeyi artmaktadır (Ito ve ark., 1999).

Oksidatif stres durumlarında DDAH enziminin sistein aminoasiti zarar görür böylece DDAH enzim aktivitesi azalır. Bu yüzden ADMA katabolizmasında sorunlar görülmektedir. ADMA'nın yıkımının azalması ADMA'nın kan seviyesinde artışını sağlamaktadır (Batista ve ark., 2009).

Homosistein, ADMA sentez yolağındaki metilasyon siklusunun bir parçası olarak görev almaktadır. Metabolik yolun bozulması, hcy'nin hücre içi birikimine neden olmaktadır. Homosistein miktarında görülen artış DDAH aktivitesinde inhibisyona neden olmaktadır. Hiperhomosisteinemili bireylerde homosistein ve ADMA düzeyleri arasında DDAH enzim aktivitesinin azalmasından kaynaklanan pozitif ilişki tespit edilmiştir (Holven ve ark., 2003).

Plazmada yüksek düzeyde homosistein bulunmasına bağlı olarak konnektif doku hücreleri ve vasküler yapı tarafından üretilen proteoglikan moleküller normal fibriller yapısını ve agregasyon fazlarını değiştirerek damar ve diğer konnektif dokularda patolojik bozukluklara neden olur (McCully, 1972).

Vücutta yüksek düzeyde homosistein; vasküler endotelyumda bozukluğa, trombosit aktivasyonuna ve nitrik oksidin salgılanmasında bozukluğa yol açar. Homosistein NO biyoyararlanımını azaltabilmektedir. Vücutta aşırı homosistein yüksek reaktif moleküllerinin (Homosistein-tiolakton) aşırı üremesine yol açar (O'Grady ve ark., 2002).

Endotelial hasara, vasküler düz kas hücrelerin proliferasyonuna, dejeneratif elastik

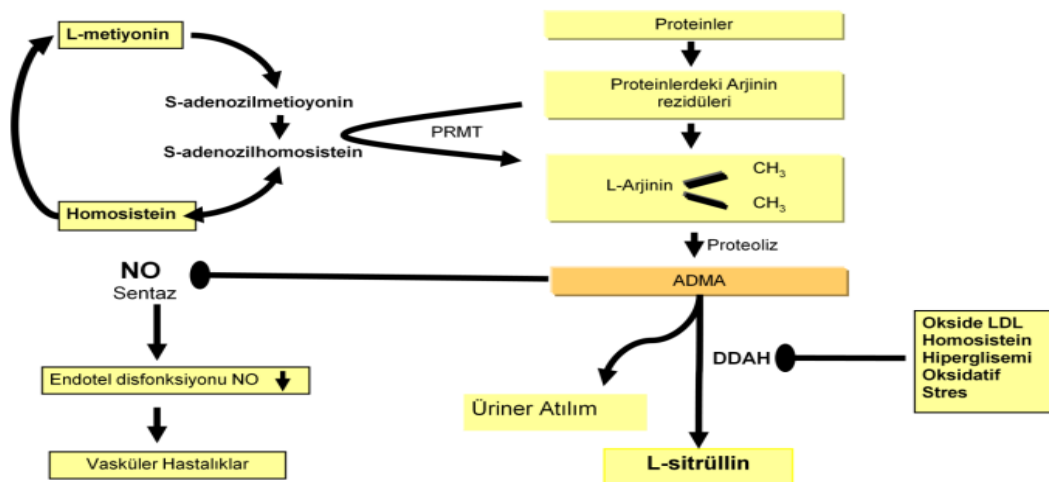
doku ve sonucunda plak formasyonla sonuçlanarak patolojik bozukluklara neden olabilmektedir (Gauthier ve ark., 2003; Hong ve ark., 2002; O'Grady ve ark., 2002).

Homosistein, NO biyoaktivitesini farklı mekanizmalarla baskılayabilmektedir. En önemlilerinden bir tanesi homosisteinin oksidatif stres yaratarak nitrik oksitin Snitrozohomosistein haline çevrilmesini sağlayarak ortamdan uzaklaşmasına sebep olmasıdır (Stakebaum ve Harlan, 1986).

NO'nun homosisteinle anormal etkileşimi sonucu yıkılması da yine NO'nun biyoyararlanımını azaltan sebeplerden bir tanesidir. Tioller, NO ile reaksiyona girerek, S-nitrozotiollerini oluştururlar. Ancak, Snitrozotioller, guanilat siklazı aktive etme yoluyla vazodilatör ve antitrombosit etkileri gösterebilirler (Radi ve ark., 1991).

1997'de Upchurch ve ark. Tarafından yapılmış olan bir çalışmada homosistein doza bağımlı, NO'nun biyoyararlanımını olumsuz etkilemektedir (Upchurch ve ark.,1997).

Stamler ve ark. 1993'te yaptıkları bir çalışmada ise homosisteine uzun süre maruz kalma (3 saatten fazla), NO cevabını bozulmalara sebep olmaktadır (Stakebaum ve Harlan, 1986).



Şekil 2.21. ADMA, NO, HCY, DDAH ilişkisi (Valkonen ve ark., 2005).

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışma için, Burdur Valiliği İl ve Tarım Müdürlüğü'nün 14.10.2021 tarihli E-698777819-325.04.02-3029440 sayılı yazısı ile gerekli izin alınmıştır. Daha sonra Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 863 karar sayılı (E-93773921-020-124488) ve 16.03.2022 tarihli Etik Kurul raporu alınmıştır. Çalışmanın her aşamasında etik ilkelere uygun olarak işlem yapılmıştır.

Yüksek lisans tezinde, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Tarım, Hayvancılık ve Gıda Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi Küçükbaş Yetiştiriciliği Birimi'nde bulunan Honamlı keçisi örnek sürüsünden yaşları 2-4 arasında değişen toplam 40 baş Honamlı melezi keçi kullanılmıştır.

Deney gruplarının oluşturulması için, sürü içine teke katılarak doğal aşım yapılmıştır. Doğal aşım sonrasında ultrason ile trans rektal yöntemle gebelik muayenesi yapılarak, gebe olmayan ve gebe keçiler belirlenmiştir. Buna göre de her grupta 20 keçi (n=20) olacak şekilde, gebe olmayan grup ve gebe grup olarak iki grup oluşturulmuştur.

Etik kurallara uygun olarak, vena jugularisten antikoagülsiz tüplere alınan kan örnekleri 3500 g'de +4°C'da 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Serumlar çalışma gününe kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Analizler yapılmadan önce örnekler laboratuvar sıcaklığına getirilerek ve serum iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile ADMA ve Hcy düzeyleri BT LAB markasına ait keçi eliza kitleri (iNOS katalog no:E1381GO, DDAH katalog no:E1380GO, ADMA katalog no:E1379GO, Hcy katalog no:E0085GO) kullanılarak Eliza cihazı ile kit protokollerine uygun olarak ölçülmüştür.

3.2 Yöntem

3.2.1. Analizlerin Yapılışı

Eliza kit protokolüne göre çalışma prensibi:

- 1- Her parametre için kit protokolünde (BT Lab) belirtilen şekilde standart solüsyonlar hazırlandı. Standart 24 ng/ml standart solüsyonu oluşturmak için 120 µl standarttı (48 ng/ml) 120 µl standart seyreltici ile sulandırıldı.
- 2- 500 ml yıkama tamponu oluşturmak için, 20 ml yıkama tamponu konsantresini 25 kat damıtılmış suyla seyreltip konsantredeki kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırıldı.
- 3- Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve daha öncesinde hazırlayıp -20 °C’de muhafaza ettiğimiz numuneleri kullanmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
- 4- Plakada; standart 1,2,3,4 ve 5 için standart solüsyonlar 50 µl olacak şekilde standart kuyulara eklendi.
- 5- Numune kuyularına 40 µl serum eklendi.
- 6- Daha sonra kitin içinden her parametre için o parametreye özgü hazırlanmış 10 µl antikor (anti inos, anti DDAH 1, anti ADMA, anti HCY) kuyucuklara eklendi.
- 7- Son olarak hem numune hem de standart kuyulara 50 µl streptavidin- HRP ekledikten sonra, plakanın üzeri kapaticıyla kapatılarak 37 °C’de 60 dakika boyunca shakerda inkübe edildi.
- 8- İnkübasyon sona erdikten sonra başlangıçta hazırladığımız yıkama tamponu kullanılarak her plaka 5 kez yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30 sn- 1 dk 300 µl yıkama tamponuyla ıslatıldıktan sonra plakalar güzel bir şekilde kurulandı.
- 9- Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra her bir kuyucuğa ilk olarak substrat A solüsyonu hemen

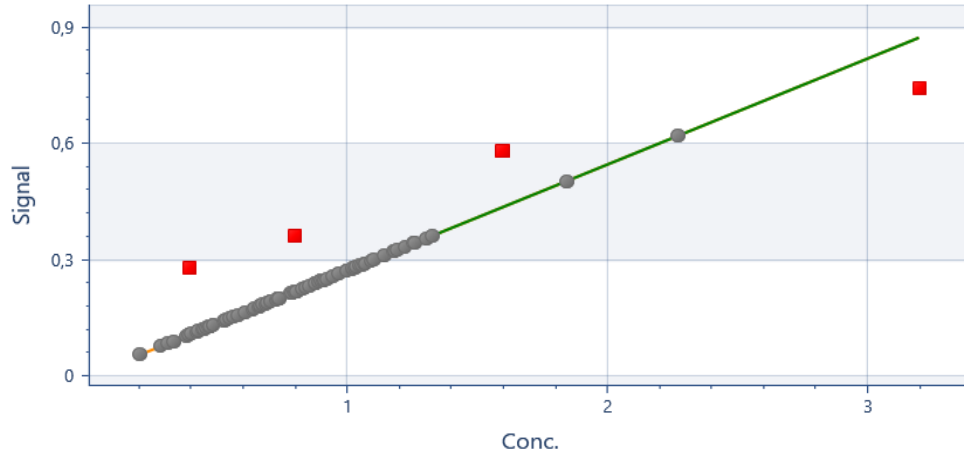
ardından substrat B solüsyonu eklendi. Plakaların üzeri bir kapatıcıyla kapatılarak 10 dakika boyunca 37°C’de shakerde inkübe edildi. 10 dakikanın sonunda stop solüsyonu her bir kuyucuğa 50 µl olacak şekilde eklendi. İşlem sırasında mavi ve sarı renk arasında renk değişimleri gözlemlendi.

10- Stop solüsyonu ekleme işleminden sonra 10 dakika içerisinde, 450 nm dalga boyuna öncesinde ayarlanmış Eliza okuyucuda (SkanIt Software 4.1 Microplate Readers) plate okutuldu.

3.2.2. Eliza Yönteminin Uygulanması:

ADMA standart eğrisi:

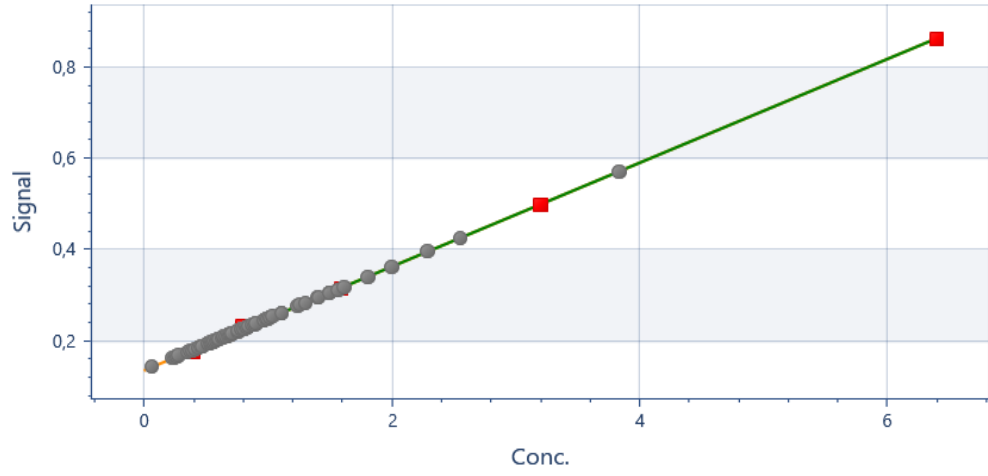
ADMA standart eğrisi 0,4 µmol/L, 0,8 µmol/L, 1,6 µmol/L, 3,2 µmol/L ve µmol/L konsantrasyonlarında standartlar kullanılarak elde edildi. ADMA için standart konsantrasyonlarla çizilen eğri Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. ADMA Eliza Standart Eğrisi

DDAH standart eğrisi:

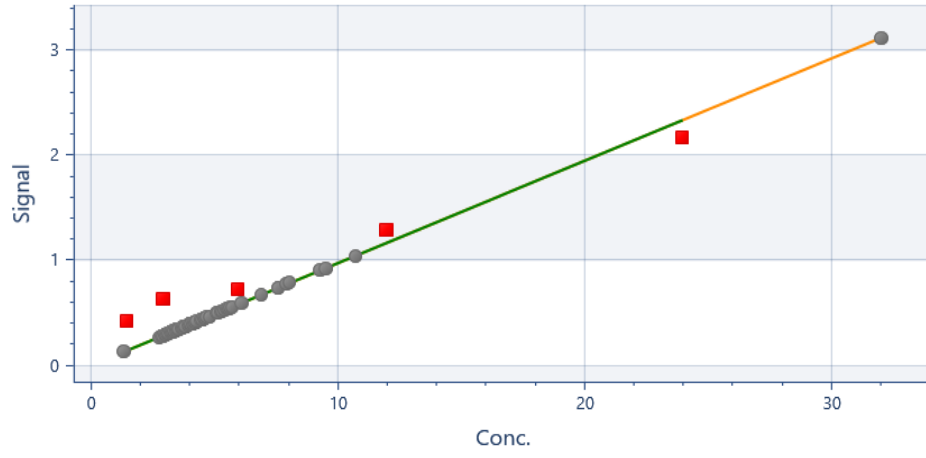
DDAH standart eğrisi 0.75 ng/ml, 1.5 ng/ml, 3 ng/ml, 6 ng/ml ve 12 ng/ml konsantrasyonlarında standartlar kullanılarak elde edildi. DDAH için standart konsantrasyonlarla çizilen eğri Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. DDAH Eliza Standart Eğrisi

iNOS standart eğrisi:

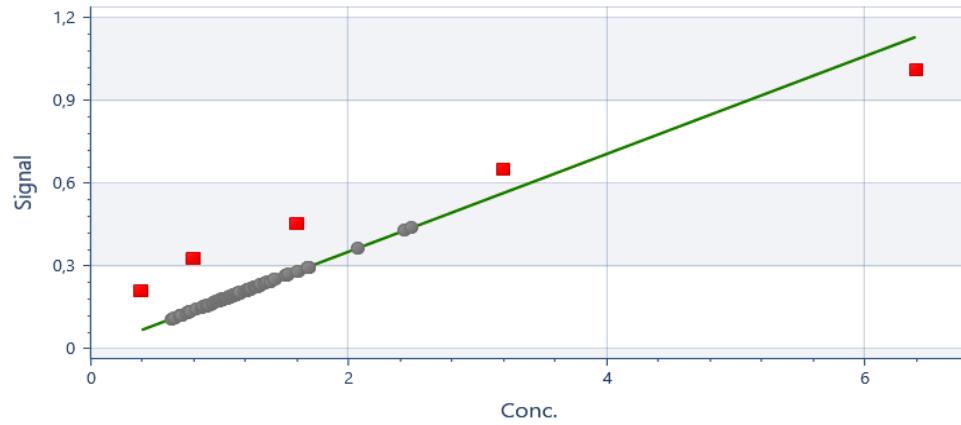
iNOS standart eğrisi 1.5 ng/ml, 3 ng/ml, 6 ng/ml, 12 ng/ml ve 24 ng/ml konsantrasyonlarında standartlar kullanılarak elde edildi. iNOS için standart konsantrasyonlarla çizilen eğri Şekil 3.3’de verilmiştir.



Şekil 3.3. iNOS Eliza Standart Eğrisi

Homosistein standart eğrisi:

Homosistein standart eğrisi 4 $\mu\text{mol/L}$, 8 $\mu\text{mol/L}$, 16 $\mu\text{mol/L}$, 32 $\mu\text{mol/L}$ ve 64 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonlarında standartlar kullanılarak elde edildi. Homosistein için standart konsantrasyonlarla çizilen eğri Şekil 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.4. Homosistein Eliza Standart Eğrisi

3.2.3. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren ADMA için gruplar arası farkın belirlenmesi Independent Samples Ttest ile, normal dağılım göstermeyen iNOS, DDAH, Homosistein için ise gruplararası fark Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. $p<0,05$ anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

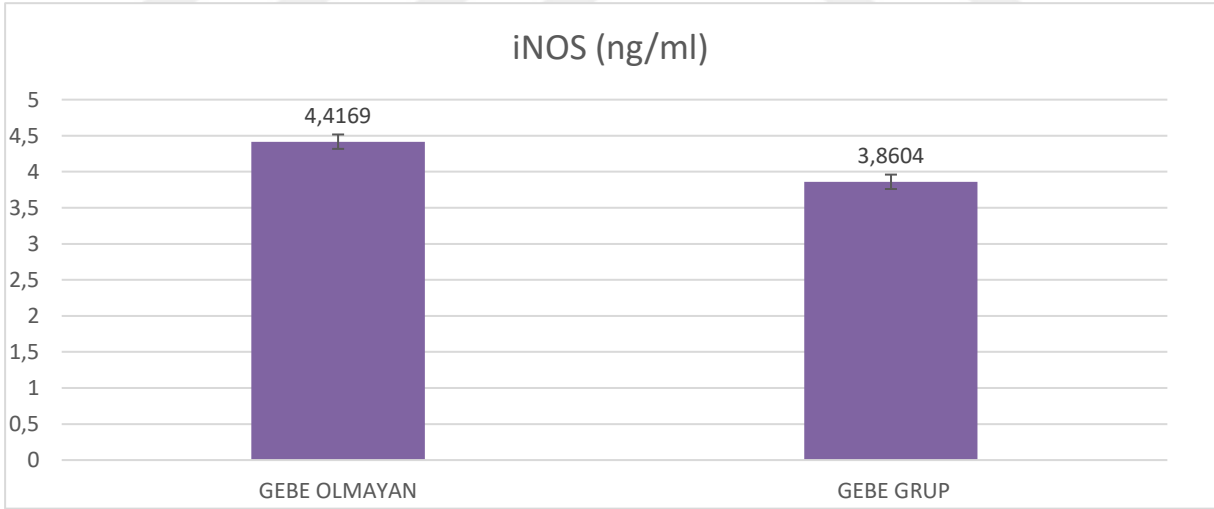
4.1.iNOS Aktivitesi

iNOS aktivitesi, gebe olmayan grupta gebe gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu.

Tablo 4.1. iNOS Aktivitesi

Parametre	GRUP		<i>p</i>
	Gebe Olmayan	Gebe	
iNOS (ng/ml)	4,28±0,78	3,96±0,58	0,176

Tabloda gruplara ait iNOS aktivitesi verilmiştir.



Şekil 4.1. Gebe olmayan ve gebe grupların iNOS sütun grafiği

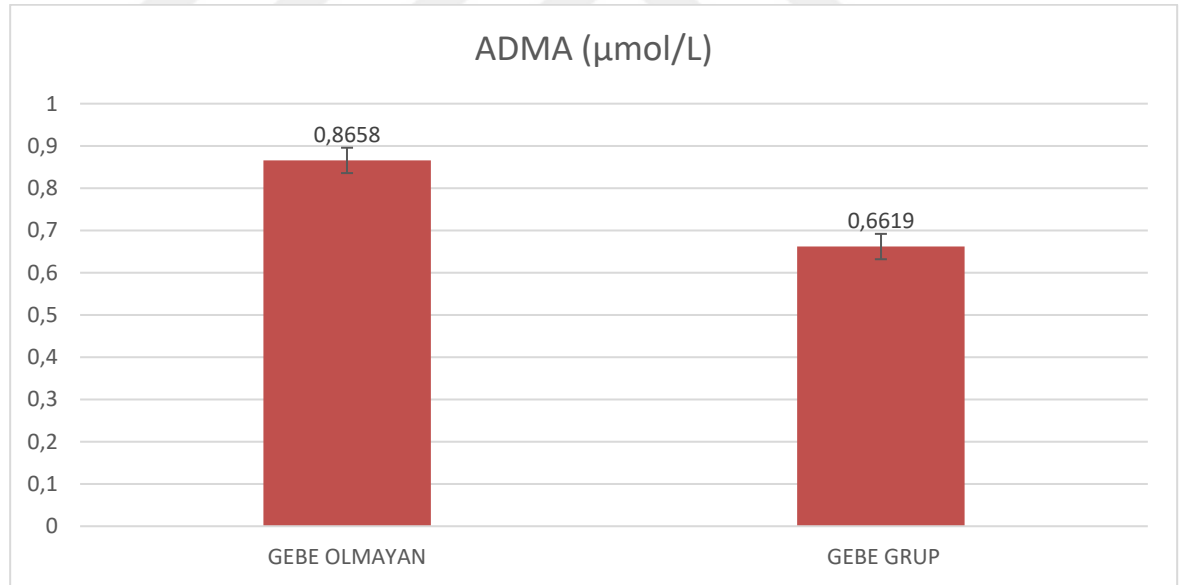
4.2. ADMA Düzeyleri

Gebe olmayan grup ADMA düzeyi, gebe olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$).

Tablo 4.2. ADMA Düzeyleri

Parametre	GRUP		<i>p</i>
	Gebe Olmayan	Gebe	
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	$0,87\pm0,20$	$0,66\pm0,10$	$<0,001$

Tabloda gruplara ait ADMA düzeyleri verilmiştir.



Şekil 4.2. Gebe olmayan ve gebe grupların ADMA sütun grafiği

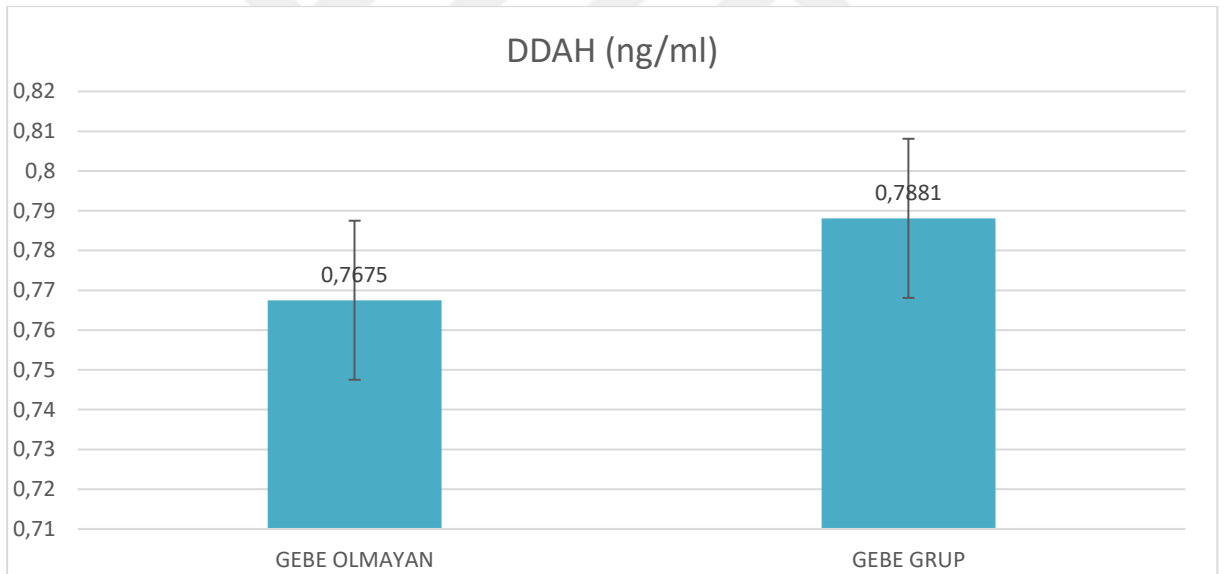
4.3.DDAH Aktivitesi

DDAH aktivitesinde gebe olmayan grupta, gebe gruba göre anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Tablo 4.3. DDAH Aktivitesi

Parametre	GRUP		<i>p</i>
	Gebe Olmayan	Gebe	
DDAH (ng/ml)	0,77±0,10	0,79±0,11	0,605

Tabloda gruplara ait DDAH aktivitesi verilmiştir



Şekil 4.3. Gebe olmayan ve gebe grupların DDAH sütun grafiği

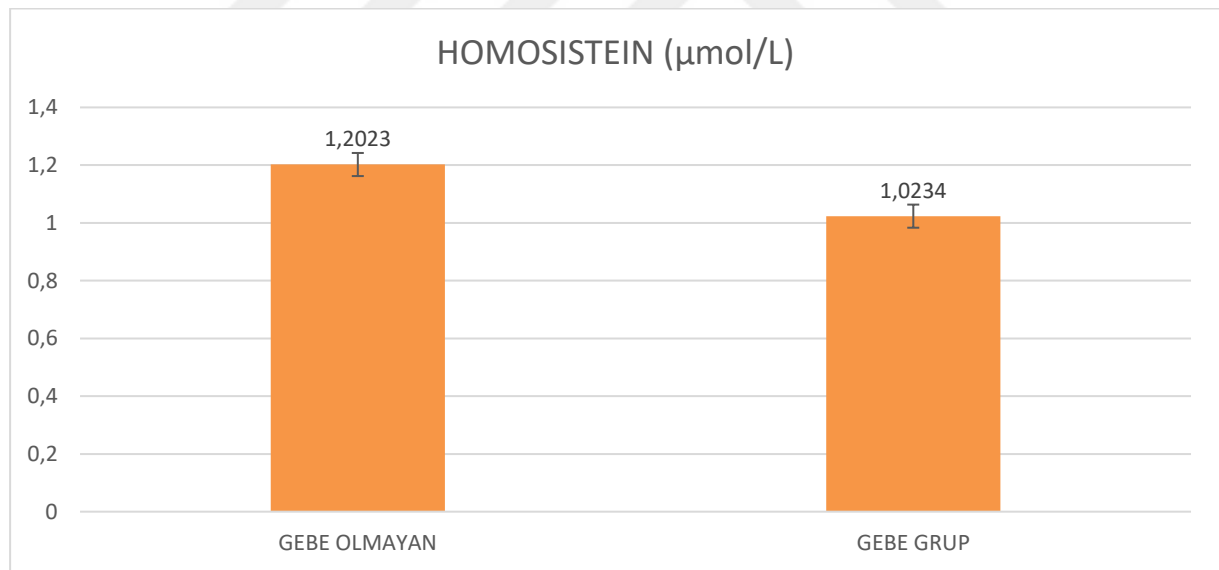
4.4.Homosistein Düzeyleri

Gebe olmayan grup homosistein düzeyi, gebe olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$).

Tablo 4.4. Homosistein Düzeyleri

Parametre	Gebe Olmayan	GRUP Gebe	<i>p</i>
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	1,20 $\pm$ 0,17	1,022 $\pm$ 0,19	0,002

Tabloda gruplara ait homosistein düzeyleri verilmiştir.



Şekil 4.4. Gebe olmayan ve gebe grupların Homosistein sütun grafiği

Gebe olmayan grup ADMA ve homosistein düzeyleri, gebe olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$). iNOS aktivitesi, gebe olmayan grupta, gebe gruba göre anlamsız olarak yüksek bulundu. DDAH aktivitesinde ise gebe olmayan grupta, gebe gruba göre anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Gruplara ait ADMA, İNOS, DDAH ve Homosistein düzeyleri tablo 4.5.'te verilmiştir.

Tablo 4.5. Gebe olmayan ve gebe grupların serum ADMA, iNOS, DDAH ve Homosistein düzeyleri

Parametre	Gebe Olmayan	GRUP Gebe	p
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	0,87 $\pm$ 0,20	0,66 $\pm$ 0,10	<0,001*
iNOS (ng/ml)	4,28 $\pm$ 0,78	3,96 $\pm$ 0,58	0,176**
DDAH (ng/ml)	0,77 $\pm$ 0,10	0,79 $\pm$ 0,11	0,605**
Homosistein ($\mu\text{mol/L}$)	1,20 $\pm$ 0,17	1,022 $\pm$ 0,19	0,002**

*: Independent samples T Test

** : Mann-Whitney U Test

Serum ADMA,iNOS,DDAH,Homosistein düzeyleri tabloda verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Ülkemizde koyun ve keçi sayısı son yıllarda azalma göstermiştir. Akdeniz bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Honamlı keçileri bölge için önemli bir ırktır. Bu sebeple keçilerde teke katımı sonrası elde edilecek gebelik oranı önem arz etmektedir. Çiftlik hayvanlarında fertilitenin belirlenmesinde kullanılabilecek güvenilir ve kolay ölçülebilir belirteçlerin belirlenmesi önemlidir. Birbiriyle ilişkili olan serum iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile ADMA ve Homosistein düzeyleri nitrik oksit metabolizması ile ilgilidir ve oksidatif stres ile ilişkili birçok durumda düzeyleri değişen parametrelerdir.

Nitrik oksit damar endotelinde vazoaktif maddeler üreterek vasküler tonus kontrolünde rol oynayan, aynı zamanda eşleşmemiş elektron içerdiği için gaz şeklinde bulunan inorganik bir serbest radikaldir.

Biyolojik sistemlerde oluşan reaktif nitrojen türleri nitrik oksitten türerler ve bu ürünlerin reproduktif organlarda çeşitli rollerinin olduğu bildirilmektedir. Nitrik oksit molekülünün üreme hormonlarının düzeninin sağlanması, gebeliğin şekillenip doğumun gerçekleşmesi ve ovaryum fonksiyonlarının yerine getirilmesi gibi üreme sistemi üzerinde birçok farklı görevde yer aldığı düşünülmektedir (Dixit ve Parvizi, 2001).

Ratlarda yapılan bir çalışmada NOS inhibitörlerinin peritona verilmesiyle ovulasyonun inhibe edildiği gözlenmiş ve elde edilen bulgular NO'nun ovaryum hücreleri ve damarlarında üretildiği ve ovulasyonu düzenlendiğini ortaya çıkarmıştır (Shukovski ve Tsafiriri, 1994).

Koyunlarda yürütülen bir çalışmada gebelikle birlikte plazmada bulunan **NO** düzeyinin gebelik süreciyle beraber yükselmeye başladığı ve gebeliğin üçüncü ayında pik düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir (Atakişi,2004). Yine koyun fetuslarında gebeliğin 60, 90 ve 120. Günlerinde NOS aktivitesini araştırdıkları bir çalışmada gebeliğin 60. gününde NOS aktivitesinde anlamlı bir artış bulduklarını bildirmişlerdir (Luo ve ark., 2004). Yang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada gebeliğin son dönemine gelen koyunlarda NO tarafından oluşan nitrat metabolitinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (Yang D. ve

ark.,1996). Keçilerde ise nitrik oksitin üreme fonksiyonları üzerine etkisini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

NO sentezinin gebeliğin dönemlerine bağlı olarak gebeliğin durumuna göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Gebelik esnasında uterusun kasılmadan sakin bir durumda kalması için NO sentezinin artması, doğum başlarken ise uterus kontraksiyonunun gerçekleşebilmesi için sentezin azalması buna örnek olarak gösterilebilmektedir (Diejomaoh ve ark.,2003).

eNOS'un ekspresyonu luteinizan hormon (LH) tarafından arttırılmaktadır. eNOS, oositlerin olgunlaşması ve ovulasyon olayı ile ilişkilidir. Plasenta tarafından da üretilmektedir (Fujii ve ark., 2005).

Nitrik oksit ayrıca gebelik sırasında fetal iç denge için önemli bir düzenleyicidir ve plasentadaki ana vazodilatörlerden biridir. Kardiyovasküler değişiklikleri, fetal gelişimi ve büyümeyi nitrik oksit kolay hale getirmektedir (Mullino ve ark., 2018). Dolayısıyla eNOS'un üremenin kontrolünde ve gebeliğin devamında önemi vardır.

Uterus, gebelik sürecinin tamamında önemli yapısal değişimler geçirir. Çünkü NO düz kas hücrelerinin kasılmasını düzenler ve gebelikte uterusun kontraksiyonuna ve distansiyonuna sebep olmaktadır (Roselli ve ark., 1998).

Dolayısıyla Gebelikle birlikte endojen NO üretiminde bir artış olduğu için bunun bir sonucu olarak çeşitli memeli türlerinde kan dolaşımındaki NO metabolitlerinin de arttığı tespit edilmiştir (Magneess ve ark., 2001). Gebelikte NO'nun plazma ve idrardaki NO₂ ve NO₃ düzeylerini arttırdığı buna karşılık olarak ise kandaki bazal NO₂ düzeyinin NO₃ düzeyinden en az 100 kat daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Diejomaoh ve ark., 2003).

Bu çalışmanın bulgularına göre, gebe olmayan keçilerde gebelere göre anlamsız olarak daha yüksek iNOS aktivitesi tespit edildi. Bu durum gebe kalma üzerine iNOS düzeyinin etkili olabileceğini düşündürebilir. Ancak gebelikte eNOS aktivitesinin ölçülmesi daha önemli olabilir.

Asimetrik dimetilarginin (ADMA), NOS inhibitörü olarak görev yapmaktadır. ADMA, nitrik oksit oluşum hızını düzenlemektedir. Oksidatif stres çeşitli karmaşık mekanizmalarla endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Dolayısıyla, azalmış NO sinyali çeşitli mekanizmalarla endotel disfonksiyonu oluşturmaktadır (Lu ve ark., 2003).

Gebelikte sistemik vasküler fonksiyonlar değişir; uterin kan akımı ve kardiyak verim artarken periferik direnç ve kan basıncı düşer. Deneysel ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar kuvvetlice göstermektedir ki artmış NO sentezi, gebelikte maternal vasküler adaptasyonun önemli bir bölümünden sorumludur. Pek çok çalışma gebelikte ADMA düzeyleri ile kan basıncı değişimi arasında ilişki olduğunu gösterir. Gebelik sırasında ADMA'nın düşüşü için pek çok olası açıklama düşünülebilir. Vazodilasyon, normal gebeliklerde kardiyak çıkışı ve plazma hacminin artışı tetikleyen ilk ve çok önemli bir hemodinamik değişimdir (Rosenfeld,2001).

Sağlıklı gebelerde serum ADMA seviyeleri düşüktür. ADMA seviyesindeki düşüklük gebelerdeki vasküler dilatasyondan ve kan basıncı değişikliklerinden sorumludur. ADMA seviyesinin normal gebelik sırasında düştüğü ve birinci trimesterin sonunda minimuma indiği ve sonra gebelik yaşıyla birlikte arttığı çalışmalarda tespit edilmiştir. Ancak gebelikte düşük olduğu, bununla birlikte gebelik haftaları arasında fark olmadığı yönünde yayınlar da vardır .

Oluşan serbest ADMA'nın çoğu dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından metabolize edilerek sitrülün ve dimetilamine yıkımı gerçekleşmektedir. ADMA konsantrasyonunun düzenleyicisi DDAH enzimidir. ADMA birikiminin, çok önemli fizyolojik fonksiyonları olan nitrik oksit üretimini azaltacağı bildirilmiştir (Nijveldt ve ark., 2003).

DDAH enziminin inhibe olması, ADMA konsantrasyonunu artırır. ADMA konsantrasyonunun da artması NO üretimini inhibe eder. DDAH aktivitesi ve seviyesi oksidatif strese karşı duyarlıdır. İnflamasyon ve oksidatif stres altında DDAH aktivitesinde azalmalar meydana gelir. DDAH aktivitesinin azalmasını sağlayan bir diğer sebep TNF α veya okside LDL

ile indüklenen oksidatif stresdir. DDAH enziminde meydana gelen bir inaktivasyon ADMA eliminasyonunda bir bozulmaya bu da ADMA seviyelerinin artmasına, sonuç olarak ise NO üretiminin azalışların görülmesine sebep olur (Wang ve ark.,2006).

Oksidatif stres de DDHA'nın seviyesini azaltmak suretiyle ADMA'nın kanda artmasına yol açmaktadır (Nabity ve ark., 2015). Enzim aktivitesini İnflamasyon ve oksidatif stres gibi durumlar azaltır. Oksidatif stres, oksidan sistem yönünde dengenin bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkmasıyla birlikte hücrede hasar oluşumu durumudur. Oksidatif stresi arttıran birçok hastalıkta ADMA düzeyinin yüksek olduğu saptanmıştır (Aydın ve ark., 2013).

DDAH enziminin inaktive olduğu durumlarda ADMA eliminasyonu bozulur bu da ADMA seviyesinin artmasına ters orantılı olarak da NO seviyesinin azalmasına neden olur (

Biriken ADMA'nın NOS'u inhibe ettiğini gözlemlenmiştir. Bu birikim, ADMA'nın DDAH ile metabolize edilmesiyle açıklanmaktadır. Plazma ADMA düzeyi primer olarak DDAH ekspresyonuna ve aktivitesini etkileyen faktörlere bağlıdır (Tran ve ark., 2003). DDAH'ın seçici bir şekilde inhibe edilmesi nitrik oksit sentezinde de azalmaya sebep olmaktadır (Leiper ve ark., 1999).

ADMA düzeyleri gebelikte düşük seviyelerde seyretmektedir. Bu durum gebeliğin oluşması ve devamında önemlidir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, gebeliğin ilk 2 aylık döneminde DDAH aktivitesinde gruplar arası farklılık henüz tespit edilememiştir. ADMA düzeyi gebe olmayan grupta yüksek bulunmuştur. Bu durumun NO sentezini azaltarak endotel disfonksiyonuna neden olmuş olabileceği düşünülürse, yüksek ADMA düzeylerinin gebe kalmayı etkilemiş olabileceği düşünülebilir

Homosistein aminoasiti çok sayıda transmetilasyon tepkimesi sonucunda sentezlenmiş, sülfür oranı oldukça yüksek olan reaktif bir madde olarak tanımlanmaktadır (Coffey ve ark., 2003). Homosisteinin ADMA'nın metabolize olmasında rol alan DDAH

enziminin aktif merkezindeki sistein molekülü ile etkileşimiyle DDAH aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir. Homosistein, ADMA sentezindeki metilasyon siklusundadır. Metabolik yolda gerçekleşen bozulmalar hücre içinde homosisteinin artmasına sebep olur. Bunun sonucunda DDAH aktivitesinde doğrudan bir baskılanma gözlenmektedir (Holven ve ark., 2003). Hiperhomosisteinemili bireylerde homosistein ve ADMA seviyeleri arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur ve ADMA seviyesinin arttığı bildirilmiştir (Holven ve ark., 2003).

Homosisteinin nitrik oksitten biyolojik olarak yararlanmayı birçok farklı mekanizma ile azalttığını gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır (Chow ve ark., 1999). Stamler ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada homosisteine uzun süre maruz kalmanın (3 saatten fazla), NO cevabını bozduğu görülmüştür (Stamler ve ark., 1993).

Homosisteinin NO oluşumunu arttırdığını ortaya koyan çalışmaların aksine homosisteinin NO sentaz aktivitesine etki etmeden, NO seviyesini inhibe ettiği sonuçları da bulunmaktadır (Wang ve ark., 2000). Farklı bir çalışmada ise endotel hücrelerinin, homosisteine kısa bir süre maruz kalmasının bile NO sentezini uyardığını göstermiştir (Starkebaum ve Harlan, 1986).

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, gebe olmayan grupta ADMA ve Homosistein düzeylerindeki anlamlı artış literatür ile uyumludur. Bu parametrelerin artışı dolayısıyla gebeliğin oluşmasında negatif etki yapmış olabilir. Çünkü özellikle ADMA düzeylerindeki düşüklüğün gebeliğin oluşması ve devamında çok önemli olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

Fizyolojik olarak birçok olayda görev alan nitrik oksit son yıllarda üreme faaliyetleri üzerinde de önemli etkileri olduğu düşünülmektedir. Gebelik sürecinde hem hormonal hem de biyolojik olarak gebeliğin şekillenip doğumun gerçekleşmesine kadar olan süreçte NO molekülü aktif olarak rol oynamaktadır. Nitrik oksit metabolizmasıyla ilgili olan iNOS ve DDAH enzim aktiviteleri ile ADMA ve Homosistein düzeyleri oksidatif stres durumunda değişkenlik gösterebilen parametrelerdir. Bu parametreler arasında birbirini etkileyebilen ilişkiler vardır. Arginin molekülünden nitrik oksit katalizlenebilmesi için nitrik oksit sentaz enzimine ihtiyaç duyulmaktadır. ADMA ise nitrik oksit sentaz için önemli bir inhibitör olarak görev yapmaktadır. Hücrelerde oluşan ADMA DDAH enzimi ile metabolize edilmektedir. Homosisteinin ise DDAH enzim aktivitesini inhibe etmektedir.

Bu tez çalışmasında gebe olmayan grup ADMA ve homosistein düzeyleri, gebe olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Gebelikte düşük ADMA düzeylerinin gebeliğin sürdürülmesinde önemli olduğu, yine bununla beraber homosistein düzeylerinin düşük olmasının ADMA düzeylerinin düşürülmesinde etkili olduğunu desteklemektedir. iNOS ve DDAH enzim aktivitelerinin gebe olmayan ve gebe grupta anlamlı düzeyde değişmediği tespit edildi. Bu sonuçlar, gebeliğin bu döneminde bu parametreler için anlamlı değişiklikler olmadığını göstermektedir. Ancak gebeliğin ilerleyen dönemlerinde daha farklı sonuçlar ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

Honamlı melezi keçilerde gebeliğin nitrik oksit metabolizması üzerindeki etkilerinin araştırılması, ADMA ve Homosistein düzeyleri ile iNOS ve DDAH enzim aktivitelerinin etkinliği için elde edilen bu veriler ileride yapılacak çalışmalar için sürü üreme sağlığına etkisinin belirlenmesinde referans elde edilmesi anlamında önemlidir. Enzim düzeylerinin elde edilen referans değerleri ile gebe kalma oranına olası etkisinin belirlenmesiyle keçi sürülerinde hem veriminin hem de üreme kalitesinin artırılmasının sağlanması Honamlı melezi keçilerde konu ile ilgili ileri çalışmalara ışık tutabilir niteliktedir.

KAYNAKLAR

Abdelnaby EA, Abo El-Maaty AM, Ragab RSA, Seida AA. (2016). Assessment of uterine vascular perfusion during the estrous cycle of mares in connection to circulating leptin and nitric oxide concentrations. *J Equine Vet Sci.*, **39**: 25–32.

Acosta TJ, Bah MB, Korzekwa A, Markiewicz W, Potochka IW, Jarozevski ZZ, Okuda K, Skarzynski D. (2009). Acute changes in circulating concentrations of progesterone and nitric oxide and partial pressure of oxygen during prostoglandin-F2a induces luteolysis in cattle. *J Reprod Development.*, 55-2.

Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. (2000). Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.*, **20(2)**:107-111.

Arndt H, Smith CW, Granger DN. (1993). Leukocyte-endothelial cell adhesion in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension.*, **21(5)**:667-73.

Atakişi E, Kırmızıgül AE, Atakişi O, Sarı EK, Öğün M, Maraşlı Ş, Özcan A, Karapehlivan M, Büyük F, Çelebi Ö (2014). Leptospirozlu sığırlarda plazma nitrik oksit (NO) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) düzeyleri ile adenozin deaminaz (ADA), gama glutamil transferaz (GGT) aktiviteleri ve perifer kan lökositlerinde alfa naftil asetat esteraz (ANAE) yöntemiyle lenfosit oranlarının belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **20(3)**: 451-455.

Atakisi E, Merhan O. (2017). Nitric Oxide Synthase and Nitric Oxide Involvement in Different Toxicities. İçinde Nitric Oxide Synthase- Simple Enzyme-Complex Roles InTech.

Atakişi O. (2004). Gebelik periyodu boyunca çinko verilen koyunlarda edükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin araştırılması. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Kars.

Aydın A, Sayal A, Işimer A. (2001). Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Gata Basımevi, Ankara.

Batista M, Landim P, Filho AC, Chagas ACP. (2009). Asymmetric Dimethylarginine

(ADMA) and Endothelial Dysfunction: Implications for Atherogenesis. *Clinics.*, **64(5)**:471–8.

Baylis C. (2006). Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol.*, **2** 209-220.

Baylis C, Mitruka B, Deng A. (1992). Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest.*, **90**: 278-281.

Bersano A, Ballabio E, Bresolin N, Candelise L (2008). Genetic polymorphisms for the study of multifactorial stroke. *Hum Mutat.*, **29(6)**, 776-795.

Bing FC. (1982). Vincent du Vigneaud: a biographical sketch. *J Nutr.*, **112(8)**:1463-73.

Bivalacqua T.J., Champion H.C., Hellstrom W.J.G. (2002). Implications of nitric oxide synthases isoforms in the pathophysiology of peyronie"s disease. *Int. J. Imp.Res.*, **14**:345-352.

Blackwell S. (2009). The biochemistry, measurement and current clinical significance of asymmetric dimethylarginine. *Ann Clin Biochem.*, **00**: 1-12.

Blom HJ, Smulders Y. (2011). Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J. Inherit Metab. Dis.*, **34(1)**: 75-81.

Bogumil R, Knipp M, Fundel SM, Vasak M. (1998). Characterization of dimethylargininase from bovine brain: evidence for a zinc binding site. *Biochem.*, **37**: 4791-4798.

Bolotina, V.M., Najibi, S., Palacino, J.J., Pagano, P.J., Cohen, R.A. (1994). Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature.*, **368**, 850-853.

Bostom AG, Lathrop L (1997). Hyperhomocysteinemia in end stage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to atherosclerotic outcomes. *Kidney Int.*, **52**, 10–20.

Böger, R. H. (2005). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. *Vascular medicine.*, **10(1_suppl)**, S19-S25.

Böger, RH., Ron, ES. (2005). L-Arginine improves vascular function by overcoming

deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev.*, **10(1)**, 14-23.

Böger, RH. (2003). The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res.*, **59(4)**, 824-33.

Brown GC, Neher JJ. (2010). Inflammatory Neurodegeneration and Mechanisms of Microglial Killing of Neurons. *Molecular Neurobiology.*, **41(2-3)**:242-7.

Bryan NS. (2006). Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence?: A systemsbased review. *Free Radical Biology and Medicine.*, **41(5)**:691-701.

Bryan NS, Bian K, Murad F. (2009). Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Front Biosci (Landmark Ed).*, **14**:1-18.

Burgner D, Rockett K, Kwiatkowski D. (1999). Nitric oxide and infectious diseases. *Archives of Disease in Childhood.*, **81(2)**: 185–188.

Büyükdoğan V. (2001). *Deneyisel akut pankreatitte oksidatif stresin rolü ve n-asetilsistein'in Tedavideki yeri.* Genel Kurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp

Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı. Uzmanlık Tezi. Ankara.

Casanueva, E., Viteri, FE. (2003). Iron and oxidative stress in pregnancy. *J Nutr.*, **133**:1700-1708.

Chakroborty S, Kim J, Schneider C, West AR, Stutzmann GE. (2015). Nitric oxide signaling is recruited as a compensatory mechanism for sustaining synaptic plasticity in Alzheimer's disease mice. *J Neurosci.*, **35(17)**:6893-902.

Chow K, Cheung F, Lao TT, O K. (1999). Effect of homocysteine on the production of nitric oxide in endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, **26**: 817-818.

Colonna, V. D. G., Bianchi, M., Pascale, V., Ferrario, P., Morelli, F., Pascale, W., and Turiel, M. (2009). Asymmetric dimethylarginine (ADMA): an endogenous inhibitor of nitric

oxide synthase and a novel cardiovascular risk molecule. *Medical science monitor.*,**15(4)**, RA91-RA101.

Conrad, KP., Joffe, GM., Kruszyna, H., Kruszyna, R., Rochelle, L.G., Smith, RP., Chavez, JE., Mosher. (1993). MD: Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEB.*, **7**: 566-571.

Cooke, JP. (2005). ADMA: its role in vascular disease. *Vasc Med.*, **10(1)**, 11-7.

Cooke JP. (2000). Does ADMA Cause Endothelial Dysfunction, Arteriosler Thromb Vasc. *Biol.*, **20**: 2032-2037.

Cooke JP (2002). Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: Role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ.*, **106**: 987-992.

Cooke JP. (2003). NO and angiogenesis. *Atheroscler Suppl.*, **4**: 53-60.

Çakmakçı M. (1999). Nitrik oksit. *Bilim ve Teknik*,**374**: 58-63.

Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, Jacobi J, Stuehlinger M, Wang B, Tsao PS, Kimoto M, Vallance P, Patterson A, Cooke JP. (2003). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis. *Circ.*, **108**: 3042- 3047.

Deng X, Welch WJ, Wilcox CS. (1994). Renal vasoconstriction during inhibition of NO synthase: Effects of dietary salt. *Kidney Int.*, **46**: 639-646.

Deng X, Welch WJ, Wilcox CS. (1996). Role of nitric oxide in short-term and prolonged effects of angiotensin II on renal hemodynamics. *Hypertens.*, **27**: 1173-1179.

Derici KM, Demirel-Yılmaz E. (2017). Nitrik oksitin kanser gelişimi ve metastaz üzerine etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.*, **74(2)**: 161-174

Diejomaoh, MFE, Omu, AE, Taher, S., Al-Busiri, N., Fatinikun, T., Fernandes, S., Al-Othman, S. (2003). Nitric oxide metabolites in preterm and induced labor. *Gynecol Obstest Invest.*, **56**: 197-2002.

- Dowling RB, Newton R, Robichaud A, Cole PJ, Barnes PJ, Wilson R. (1998).** Effect of inhibition of nitric oxide synthase on *Pseudomonas aeruginosa* infection of respiratory mucosa in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **19**: 950- 958.
- Dusting G.J. (1996).** Nitric oxide in coronary artery disease, roles in atherosclerosis, myocardial infarction and heart failure. *EXS.*, **76**: 33-35.
- Edwards AD. (1995).** The pharmacology of inhaled nitric oxide. *Archives of Disease in Childhood.*, **72**: 127-130.
- Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, et al. (1998).** Nitrite and nitrate analyses: a clinical biochemistry perspective. *Clin Biochem.*,**31(4)**: 195-220.
- Fang Y Z, Yang S, Wu G. (2002).** Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutr.*, **18(10)**: 872-879.
- Finkelstein JD. (2000).** Homocysteine: a history in progress. *Nutrition Reviews.*, **58**: 193-204.
- Fish JE, Marsden PA. (2006).** Endothelial nitric oxide synthase: insight into cell-specific gene regulation in the vascular endothelium. *Cell Mol Life Sci.*, **63(2)**:144-62.
- Forstermann U, Munzel T. (2006).** Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation.*, **113(13)**:1708-14.
- Fredrik P, Maristela LO et al. (2007).** Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, **293**: H3227–H3245.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. (1980).** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.*, **288**: 373-6.
- Fujii J, Iuchi Y, Okada F. (2005).** Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reproduc Biol Endocrinol.*, **3**:43.

Galkin A, Kulakova L, Sarikaya E, Lim K, Howard A, Herzberg O. (2004). Structural insight into arginine degradation by arginine deiminase, an arginine deiminase. *J Biol Chem.*, **279**: 14001-14008.

Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S. (1993). Regional and cardiac haemodynamic effects of NG, NG, dimethyl-L-arginine and their reversibility by vasodilators in conscious rats. *Br J Pharmacol.*, **110**: 1457- 1464.

Garthwaite J. (1991). Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Elsevier Sci Pub Tins.*, **14(2)**:60-67.

Gauthier GM, Keevil JG, McBride PE (2003). The Association of homocysteine and coronary artery disease. *Clin Cardiol.*, **26**, 563–568.

Gladwin MT, Shelhamer JH, Schechter AN, Pease-Fye ME, Wacławski MA, Panza JA, et al. (2000). Role of circulating nitrite and S-nitrosohemoglobin in the regulation of regional blood flow in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **97(21)**:11482-7.

Głowacki R, Bald E, Jakubowski H (2011). An on-column derivatization method for the determination of homocysteine-thiolactone and protein N-linked homocysteine. *Amino Acids DOI.*, 10.1007/s: 00726-010-0521-7.

Goligorsky MS. (2005). Endothelial cell dysfunction: can't live with it, how to live without it. *Am J Physiol Renal Physiol.*, **288**: F871-F880.

Granger JP., Alexander BT. (2000). Abnormal pressure-natriuresis in hypertension: role of nitric oxide. *Acta Physiol Scandinavica.*, **168**: 161- 168.

Grazul-Bilska AT, Navanukraw C, Johnson ML, Arnold DA Reynolds LP, Redmer D A. (2006). Expression of endothelial nitric oxide synthase in the ovine ovary throughout the estrous cycle. *Reprod.*, **132(4)**: 579–587.

Griendling KK, FitzGerald Ga. (2003). Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: Animal and human studies. *Circ.*, **108**: 2034-2040.

Hartzoulakis B, Rossiter S, Gill H, O'Hara B, Steinke E, Gane PJ, Hurtado-Guerrero R, Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Munzel T, Just H, Olschewski M, Drexler H. (1996). Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia, Role of oxidized LDL. *Circ.*, **93**: 1346-1353.

Hess DT, Matsumoto A, Kim SO, Marshall HE, Stamler JS. (2005). Protein Snitrosylation: purview and parameters. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, **6(2)**:150- 66.

Hong MK, Park SW, Whan Lee C, Choi SW, Song JM, Kang DH, Song JK, Kim JJ, Park SJ (2002). *Elevated Homocysteine Levels Might Be Associated with Coronary.*

Hu T, Chouinard M, Cox Amy L, et al. (2006). X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. *J Biol Chem.*, **281(52)**:39831-8.

Ignarro LJ, Buga GM, Wei LH, Bauer PM, Wu G, del Soldato P (2001). Role of the argininenitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *PNAS.*, **98**, 4202- 4208.

Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. (1999). Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ.*, **99**: 3092-3095.

Jakubowski H. (2019). Homocysteine Modification In Protein Structure/Function And Human Disease. *Physiol Rev.*, **99**: 555–604.

Jia SJ, Jiang DJ, Hu CP, Zhang XH, Deng HW, Li YJ. (2006). Lysophosphatidylcholineinduced elevation of asymmetric dimethylarginine level by the NADPH oxidase pathway in endothelial cells. *Vascul Pharmacol.*, **44**: 143-148.

Jones ML, Ganopolsky JG, Labbe A, Wahl C, Prakash S. (2010).Antimicrobial properties of nitric oxide and its application in antimicrobial formulations and medical devices. *Appl Microbiol Biotechnol.*, **88(2)**:401-7.

Kakimoto Y, Akazawa S. (1970). Isolation and identification of NG, NG -and NG, NG'-dimethylarginine, N-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- 92 and galactosyl- δ -hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem.*, **245**: 5751- 5758.

Kaminski SL, Redmer DA Bass CS, Keisler DH, Carlson LS, Vonnahme KA, Grazul-Bilska AT. (2015). The effects of diet and arginine treatment on serum metabolites and selected hormones during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology.*, **83(5)**: 808–816.

Kang ES., Cates TB., Harper DN., Chiang TM ve ark. (2001). An Enzyme Hydrolyzing Methylated Inhibitors of Nitric Oxide Synthase is Present in Circulating Human Red Blood Cells. *Free Radical Research.*, **35**: 693-707.

Khan FA, Scholtz EL, Chenier TS. (2015). The nitric oxide system in equine reproduction: Current Status and Future Directions. *J. Equine Vet. Sci.*, **35(6)**: 481–487.

Kılınç, A. ve Kılınç K (2003). Nitrik Oksit. *Palme Yayıncılık.*, 975-8624-56-3.

Kimoto M, Whitley GS, Tsuji H et al. (1995). Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J Biochem.*, **117**:237–238.

Kim SF. (2011).The role of nitric oxide in prostaglandin biology; update. *Nitric Oxide.*, **25(3)**:255-64.

Kingwell BA. (2000). Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: Effect of training in health and cardiovascular disease. *FASEB.*, **14**:1685-1696.

Kitiyakara C, Chabrashvili T, Jose P, Welch WJ, Wilcox CS. (2001). Effects of dietary salt intake on plasma arginine. *Am J Physiol.*, **280**: R1069-R1075.

Knipp M. (2006). How to control NO production in cells: N(omega), N(omega)- dimethyl-Larginine dimethylaminohydrolase as a novel drug target. *Chembiochem.*, **7**: 879-889.

Knipp M, Charnock JM, Garner CD, Vasak M. (2001). Structural and functional characterization of the Zn(II) site in dimethylargininase-1 (DDAH-1) from bovine brain, Zn(II)

release activates DDAH-1. *J Biol Chem.*, **276**: 40449- 40456.

Knowles RG, Moncada S. (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J.*, **298**: 249-258.

Kone BC. (2004). Nitric oxide synthesis in the kidney: isoforms, biosynthesis, and functions in health. *Semin Nephrol.*, **24**: 299-315.

Kone BC. (2006). NO break-ins at water gate. *Hypertens.*, **48**: 29-30.

Krol M, Kepinska M. (2020). Human Nitric Oxide Synthase-Its Functions, Polymorphisms, and Inhibitors in the Context of Inflammation, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci.*, **22**(1).

Kumar A, Palfrey HA, Pathak R, Kadowitz PJ, Gettys TW, Murthy SN. (2017). The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health. *Nutr Metab (Lond).*, **22**;14:78.

Kurtuluş H, Eskiocak S, Tütüncüler, F ve ark. (2003). Deneyisel sistemik hipoksi geliştirilmiş yenidoğan ratlarda N-asetilsistein uygulamasının etkileri. *Türk Biyokim Derg.*, **28**(2): 40-44.

Ledda C, Cannizzaro E, Lovreglio P, Vitale E, Stufano A, Montana A, Li Volti G, Rapisarda V. (2019). Exposure to Toxic Heavy Metals Can Influence Homocysteine Metabolism? *Antioxidants (Basel).*, **28**;9(1).

Lee MY, Sun KH, Chiang CP, Huang CF, Sun GH, Tsou YC. (2015). Nitric oxide suppresses LPS-induced inflammation in a mouse asthma model by attenuating the interaction of IKK and Hsp90. *Exp Biol Med (Maywood).*, **240**(4):498-507.

Lefebvre RA. (2002). Pharmacological characterization of the nitrergic innervation of the stomach. *Verh K Acad Geneesk Belg.*, **64**(3):151-66.

Lehotský J, Tothová B, Kovalská M, et al. (2016). Role of homocysteine in the ischemic

stroke and development of ischemic tolerance. *Frontiers in neuroscience.*, **10**:538.

Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. (2002). S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: Further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Nat Acad Sci USA.*, **99**: 13527-13532.

Leiper J, Nandi M, Torondel B, Murray-Rust J, Malaki M, O'Hara B, Rossiter S, Anthony S, Madhani M, Selwood D, Smith C, Wojciak-Stothard B, Rudiger A, Stidwill R, McDonald NQ, Vallance P. (2007). Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nat Med.*, **13**: 198-203.

Leiper J, Vallance P. (2003). Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.*, **43**: 542- 548.

Leiper JM, Maria JS, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GStJ, Vallance P. (1994). Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J.*, **343**: 209-214.

Levine J, Gur E, Loewenthal R, Vishne T, Dwolatzky T, Van Beynum IM, Sela BA, Vered I, Yosef G, Stein D (2007). Plasma Homocysteine Levels in Female Patients with Eating Disorders. *Int J Eat Disord.*, **40**, 277–284.

Lin G, Dongyan W, Yang L, Dingfang B, Lin C, Yongzheng P, QI Yongfen QI, Chaoshu T (2003). Homocysteine increases the synthesis of adrenomedullin in vascular fibroblasts of rats. *Chinese Sci Bull.*, **48** (10), 983-987.

Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP. (2002). Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: Role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ.*, **106**: 987-992.

Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM,

MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russel RJ, Hodson H, Whitley GS, Vallance P. (1996). Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol.*, **119**: 1533-1540.

Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP. (2002). Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: Role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ.*, **106**: 987-992.

Lin L, Abou-Mohamed G, Caldwell RB, Caldwell RW. (2001). Endothelial cell dysfunction in a model of oxidative stress. *Med Sci Monit.*, **7**: 585-591.

Lu TM., Yu-An Ding, Shing-Jong Lin, Wen-Shin Lee, Ho-Charng Tai. (2003). *European Heart Journal*, Volume 24, Issue 21, 1 1912–1919.

Lubos, E., Handy, DE., Loscalzo, J. (2008). Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis. *Front Biosci.*, **(13)**, 5323-44.

Lucca, JJD, Adeagbo, ASO, Alsip, NL. (2000). Oestrus cycle and pregnancy

Alter the reactivity of the rat uterine vasculature, *Human Reproduction.*, **15(12)**: 2496-2503.

Lugowski M, Saczko J, Kulbacka J, Banas T.(2011). Reactive oxygen and nitrogen species. *Pol Merkur Lekarski.*, **31(185)**:313-7.

Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.*, **7(2)**:156- 67.

Luo, H., Cui, S., Chen, D., Liu, J., Liu, Z. (2004). Immunohistochemical detection of iskelet-1 and neuronal nitric oxide synthase in the dorsal root ganglia (DRG) of sheep fetuses during gestation. *J Histochem Cytochem.*, **52**: 797:803.

Maas R. (2005). Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc Med 10 Suppl 1.*, S49-S57.

MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russel RJ, Hodson H, Whitley GS, Vallance P. (1996). Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol.*, **119**: 1533-1540.

MacAllister RJ, Whitley GS, Vallance P. (1994). Effects of guanidino and uremic compounds on nitric oxide pathways. *Kidney Int.*, **45**: 737-742.

Magness, RR., Sullivan, JA., Ti, Y., Phemetton, TM., Bird, IM. (2001). Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. VI. Ovarian and pregnancy effects on eNOS and NOx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, **280**:1692-98.

Maron BA, Michel T. (2012). Subcellular localization of oxidants and redox modulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circ J.*,**76(11)**:2497- 512.

Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Azuma H. (1999). Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors of NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol.*, **126**: 211-218.

Maul, H., Longo, M., Sade, GR., Garfield, RE. (2003). Nitric oxide and its role during pregnancy: from ovulation to delivery. *Curr Pharm Des.*,**9**: 359- 380. 21.

McCully KS(1972). Macromolecular basis for homocysteine-Induced changes in proteoglycan structure in growth and arteriosclerosis. *Am J Pathol.*, **66**,83-96.

Mc Cord J M . (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.*,**108**: 652-659.

McMichael M, Freeman LM, Selhub J, Rozanski EA, Brown DJ, Nadeau MR., Rush JE (2000). Plasma homocysteine, B vitamins, and amino acid concentrations in cats with cardiomyopathy and arterial thromboembolism. *J Vet Intern Med.*,**14**,507–512.

Mikkelsen RB, Wardman P. (2003). Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene.*, **22(37)**:5734-54.

Mineer SE, Evrovski J, Cole D. (1997). Clinical chemistry and molecular biology of

homocysteine metabolism. An Update. *Clinical Biochemistry.*, **30**: 189-201.

Mittermayer, F., Pleiner, J., Krzyzanowska, K., Wiesinger, G. F., Francesconi, M., & Wolzt, M. (2005). Regular physical exercise normalizes elevated asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Wiener klinische Wochenschrift.*, **117(23)**, 816-820.

Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T., (1999). Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circ.*, **99** 1141-1146.

Moonmanee T, Navanukraw C, Uriyapongson S, Kraisoorn A, Aiumlamai S, Guntaprom S, Redmer D A. (2013). Relationships among vasculature, mitotic activity, and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in bovine antral follicles of the first follicular wave. *Domes. Anim. Endoc.*, **45(1)**: 11–21.

Muriel P, Pérez-Rojas JM. (2003). Nitric oxide inhibits mitochondrial monoamine oxidase activity and decreases outer mitochondria membrane fluidity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology.*, **136(3)**:191-7.

Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Phelan J, Tilley S, Santa Maria J, Vallance P, McDonald N. (2001). Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Na Struct Biol.*, **8**: 679-683.

Nabity MB, Lees GE, Boggess MM et al (2015). Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine.*, **29(4)**: 1036-1044.

Nasiri F, Güneş V, Meral Ö, Pekcan M, Kismali G, Salmanoğlu B, Sel T. (2014). İçme sularında yüksek nitrat bulunan akkaraman koyunlarda serum seruloplazmin, paraoksanaz ve nitrik oksit düzeyleri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Der.*, **20(2)**: 239–242.

Nath P, Maitra S. (2018). Physiological relevance of nitric oxide in ovarian functions: an overview. *Gen. Comp. Endocrinol.*

Nathan C., Xie Q.W. (1994). Nitric oxide synthases. Roles, tolls and controls. *Cell.*,**78**: 915-918.

Navar LG., Majid DS. (1996). Interactions between arterial pressure and sodium excretion. *Curr Opin Nephrol Hypertens.*, **5(1)**: 64-71.

Nelson RJ, Demas GE, Huang PE, Fishman MC, Dawson VL, Dawson TD, Synder SH. (1995). Behavioural abnormalities in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Nature.*, **378**.

Nelson, SH., Steinsland. OS., Wang, Y., Yallampalli, C., Dong, YL., Sanchez. J. (2000). Increased nitric oxide synthase activity and expression in the human uterine artery during pregnancy. *Circulation Res.*, **87**:406- 411.

Nijveldt RJ, Siroen MP, Teerlink T, Van Leeuwen PA. (2004). Elimination of asymmetric dimethylarginine by the kidney and the liver: a link to the development of multiple organ failure? *J Nutr.*, **134**: 2848S-2852S.

Nijveldt RJ, Teerlink T, Siroen MP, van Lambalgen AA, Rauwerda JA, van Leeuwen PA. (2003).The liver is an important organ in the metabolism of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Clin Nutr.*, **22**: 17-22.

Nisbet C, Yarim GF, Çiftçi A, Çenesiz S, Çiftçi G. (2007). Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. *Ankara Üniv Vet. Fak. Der.*, **50(1)**.

O'Driscoll G, Green D, Maiorana A, Stanton K, Colreavy F, Taylor R. (1999). Improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulindependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.*, **33**: 1506-1511.

O'Driscoll G, Green D, Rankin J, Stanton K, Taylor R. (1997). Improvement in endothelial function by angiotensin converting enzyme inhibition in insulindependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.*,**100**: 678-684.

Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. (1987). Occurrence of a new enzyme catalyzing the direct

conversion of NG, NG -dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem Biophys Res Commun.*, **148**: 671-677.

Ogawa T, Kimoto M, Watanabe H, Sasaoka K. (1987). Metabolism of NG, NG- and NG, N'G dimethylarginine in rats. *Arch Biochem Biophys.*, **252**: 526-537.

O'Grady H, Kelly C, Bouchier-Hayes D, Leahy A (2002). Homocysteine and occlusive arterial disease. *Brit J Surg.*, **89**, 838-844.

Onozato ML, Tojo A, Leiper J, Fujita T, Palm F, Wilcox CS. (2007). *Expression of DDAH and PRMT isoforms in the diabetic rat kidney; effects of angiotensin II receptor blocker.* Diabetes Ref Type: In Press

Karadağ O. (2016). *Honamlı Keçisinin Bazı Morfolojik Özellikleri Dölverimi ve Kazein Genleri Poliformizi Bakımından İncelenmesi.* Doktora Tezi. Tekirdağ.

Ortiz PA, Hong NJ, Garvin JL. (2001). NO decreases thick ascending limb chloride absorption by reducing Na⁺ -K⁺ -2Cl⁻ cotransporter activity. *Am J Physiol Renal Physiol.*, **281**: F819F825.

Paige JS, Jaffrey SR. (2007). Pharmacologic manipulation of nitric oxide signaling: targeting NOS dimerization and protein-protein interactions. *Current topics in medicinal chemistry.*, **7(1)**:97-114.

Palm, F., Onozato, ML., Luo, Z., Wilcox, CS. (2007). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Pyhsiol.*, **293(6)**, 3227-45.

Reiter CD, Teng RJ, Beckman JS. (2000). Superoxide reacts with nitric oxide to nitrate tyrosine at physiological pH via peroxynitrite. *J Biol Chem.*, **275(42)**:32460-6.

Reutens S, Sachdev P (2002). Homocysteine in neuropsychiatric disorders of the elderly. *Int J Geriatr Psych.*, **17**, 859–864.

Rossiter S, Smith CL, Malaki M, Nandi M, Gill H, Leiper JM, Vallance P, Selwood DL.

(2005). Selective substrate-based inhibitors of mammalian dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J Med Chem.*, **48**: 4670-4678.

Paige JS, Jaffrey SR. (2007). Pharmacologic manipulation of nitric oxide signaling: targeting NOS dimerization and protein-protein interactions. *Current topics in medicinal chemistry.*, **7(1)**:97-114.

Polotskaia A, Wang M, Patschan S, Addabbo F, Chen J, Goligorsky MS. (2007). Regulation of arginine methylation in endothelial cells: role in premature senescence and apoptosis. *Cell Cycle* .

Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem.*, **266**: 4244-4250.

Reutens S, Sachdev P (2002). Homocysteine in neuropsychiatric disorders of the elderly. *Int J Geriatr Psych.*,**17**,859–864.

Rodionov, RN., Martens-Lobenhoffer, J., Brilloff, S., Hohenstein, B., Jarzebska, N., Jabs, N., Kittel, A., Maas, R., Weiss, N., Bode-Böger, SM. (2014). Role of alanine:glyoxylate aminotransferase 2 in metabolism of asymmetric dimethylarginine in the settings of asymmetric dimethylarginine overload and bilateral nephrectomy. *Nephrol Dial Transplant.*, **29(11)**, 2035-42.

Saatçı M, Elmaz Ö (2017). *Honamlı, Newly Registered Special Goat Breed of Turkey*. In: Simões J. , Gutiérrez C. (eds) Sustainable Goat Production in Adverse Environments: Volume II. Springer, Cham. p: 131-146.

Salazar FJ, Alberola A, Pinilla JM, Romero JC, Quesada T. (1993). Salt-induced increase in arterial pressure during nitric oxide synthesis inhibition. *Hypertens.*, **22**: 49-55.

Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E et al. (2004). Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med.*, **42**:1377–1383.

Scordalakes EM, Shetty SJ, Rissman EF. (2002). Roles of estrogen receptor α and androgen receptor in the regulation of neuronal nitric oxide synthase. *J Comp Neuro.*, **453(4)**: 336–344.

Sessa WC. (1994). The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res.*, **31**, 131-143.

Shami P.J., Moore J.O., Cockerman J.P., Halhorn W.J., Misukonis M.A., and Weinberg J.B. (1995). Yeni izole edilmiş non-lenfositik lösemi hücrelerinde büyüme ve farklılaşmanın NO tarafından düzenlenmesi. *Leukaemia Research.*, 19(8): 527- 534.

Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology.*, **15(6)**:252-9.

Shukovski L., Tsafiriri A. (1994). The involvement of nitric oxide in the ovulatory process in the rat. *Endocrinol.*, **135(5)**: 2286-2290.

Sibal, L., Agarwal, SC., Home, PD., Boger, RH. (2010). The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rev.*, **6(2)**, 82-90.

Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. (1993). Adverse vascular effects of Homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.*, **91**: 303-318.

Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, et al. (1992). A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *Jama.*, **268(7)**:877-81.

Starkebaum G, Harlan JM. (1986). Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest.*,**77**: 1370-1376.

Stoos BA, Garcia NH, Garvin JL. (1995). Nitric oxide inhibits sodium reabsorption in the isolated perfused cortical collecting duct. *J Am Soc Nephrol.*, **6**: 89-94.

Stryer, Lubert (1995). Biochemistry 4th Edition. *W.H. Freeman and Company.*, ss. pp. 732. ISBN 0-7167-2009-4.

Stuehr DJ. (2004). Enzymes of the L-Arginine to Nitric Oxide Pathway. *American Society for Nutritional Sciences.*, 2748–2751.

Stuhlinger M, Abbasi F, Chu J, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS. (2002). Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA.*, **287**: 1420-1426.

Sürmeli E (2013). *Deneyisel diyabet oluşturulan ratlarda; asimetrik dimetilarginin, nitrik oksit ve total antioksidan kapasite düzeylerinin ölçülmesi.* Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Sydow K, Mondon CE, Cooke JP. (2005). Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vasc Med.*, 10 Suppl 1: S35-S43.

Tabakoğlu E, Durgut R (2013). Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi .*, **3(1)**: 69-75.

Tanyıldız A (1990). Orta Asya'dan Gedikli Köyü'ne Honamlı Yörükleri. Isparta.

Tatsch E, Bochi GV, Pereira RS, Kober H, Agerri VA, Campos MMA, Gomes P, Drescure Duarte MMM, Moresco RN. (2011). A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate. *Clinical Biochemistry.*, **44**: 348–350.

Toescu V, Nuttall SL, Martin U, et al. (2004). Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated with diabetes. *Clin Sci.*, **106** (1):93-98.

Toescu V, Nuttall SL, Martin U, et al. (2002). Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin Endocrinol.*, **57**:609-613.

Tojo A, Kimoto M, Wilcox CS., (2000). Renal expression of constitutive NOS and DDAH: separate effects of salt intake and angiotensin. *Kidney Int.*, **58**: 2075- 2083.

Tojo A, Madsen K, Wilcox CS. (1995). Expression of immunoreactive nitric oxide synthase isoforms in rat kidney: effects of dietary salt and losartan. *Jpn Heart J.*, **36**: 389-398.

Tojo A, Onozato ML, Fujita T. (2006). Role of macula densa neuronal nitric oxide synthase

in renal diseases. *Med Mol Morphol.*, **39**: 2-7.

Tousoulis, D., K Georgakis, M., Oikonomou, E., Papageorgiou, N., Zaromitidou, M., Latsios, G., Siasos, G. (2015). Asymmetric dimethylarginine: clinical significance and novel therapeutic approaches. *Current medicinal chemistry.*, **22(24)**, 2871-2901.

Tran Cam TL, Fox MF et al. (2000). Chromosomal localization, gene structure and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics.*, **68**:101–105.

Tran CT, Fox MF, Vallance P, Leiper JM. (2000). Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics.*, **68**: 101-105.

Tran CTL, Leiper JM, Vallance P. (2003). The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atherosclerosis Supplement.*, **4**: 33-40.

Tuteja N, Chandra M, Tuteja R, Misra MK. (2004). Nitric Oxide as a Unique Bioactive Signaling Messenger in Physiology and Pathophysiology. *J Biomed Biotechnol.*, **(4)**:227-37.

Tuztaş AH, Donuk DA (2005). *Günümüzde Isparta’da Yaşayan Yörüklerin Siyasi ve Kültür Tarihleri.* İÜ Sosyal Bilimler Enstitüsü Tarih ABD, İstanbul/Türkiye.

Türközü Y, Aygün DA, Gözükar ME, Turgut M, Çekmen BE. (2001). Nitrik Oksit (NO) Ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)' ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *T Klin Pediatri.*,**10**: 226-236

Tyagi N, Sedoris KC, Steed M, Ovechkin AV, Moshal KS, Tyagi SC. (2005). Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stres. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, **289**: H2649H2656.

Ueda S, Kato S, Matsuoka H, Kimoto M, Okuda S, Morimatsu M, Imaizumi T. (2003). Regulation of cytokine induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine. *Cir Res.*, **92**: 226-233.

Ulbrich SE, Rehfeld S, Bauersachs S, Wolf E, Rottmayer R, Hiendleder S, Vermehren M,

Sinowatz F, Meyer HHD, Einspanier R. (2006). Region-specific expression in nitric oxide synthases in the bovine oviduct during the oestrous cycle and in vitro. *Journal of Endocrinology.*, 188, 205-213.

Unlu, A., Onmaz, D. E., Abusoglu, S., & Abusoglu, G. (2021). HPLC and LC-MS/MS measurement methods for the quantification of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and related metabolites. *Turkish Journal of Biochemistry.*, **46(4)**, 327-347. doi:doi:10.1515/tjb-2020-0150.

Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, Pigazzi A, Keaney JF Jr, Loscalzo J. (1997). Stimulation of endothelial nitric oxide production by homocyst(e)ine. *Atherosclerosis.*, **132**: 177-185.

Üren N, Fidancı UR, Kırmızıgül AH, Findancı V, Pekcan M (2009). Kronik böbrek yetmezlikli kedilerde homosistein düzeyleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **15 (4)**, 543- 546.

Valkonen, V.-P., & Laaksonen, R. (2004). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.*, **348(1-2)**, 9-17

Valkonen VP, Tuomainen TP, Laaksonen R. (2005). DDAH gene and cardiovascular risk. *Vasc Med 10 Suppl.*, **1**: S45-S48.

Vallance P. (2001). Importance of asymmetrical dimethylarginine in cardiovascular risk. *Lancet.*, **358**: 2096-2097.

Vallance P, Leiper J. (2005). Asymmetric dimethylarginine and kidney disease-- marker or mediator? *J Am Soc Nephrol.*, **16** 2254-2256.

Vallance P, Leiper J. (2002). Blocking NO synthesis: how, where and why? *Nat Rev Drug Discov* 1., 939-950.

Vallance P, Leiper J. (2004). Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, **24**: 1023-1030.

- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. (1992).** Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol.*, **20**: S60-S62.
- Van Voorhis BJ., Moore, K., Strijbos, PJ., Nelson, S., Baylis, SA., Grzybicki, D., Weiner, CP. (1995).** Expression and localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the rat ovary. *J Clin Invest.*, **96**:2719–2726.
- Vannini F, Kashfi K, Nath N. (2015).** The dual role of iNOS in cancer. *Redox Biology.*, **6**:334-43.
- Veille JC, Li P, Eisenach JC, Massmann AG, Figueroa J P. (1996).** Effects of estrogen on nitric oxide biosynthesis and vasorelaxant activity in sheep uterine and renal arteries in vitro. *Am J Obstet Gynec.*, **174**(3): 1043–1049.
- Wang D, Gill P, Chabrashvili T, Onozato ML, Raggio J, Mendonca M, Dennehy K, Li M, Modlinger P, Leiper J, Vallance P, Adler O, Leone A, Tojo A, Welch WJ, Wilcox CS. (2007).** Isoform-specific regulation by N(G), N(G)- dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO. *Circ Res.*, **101**: 627-635.
- Wang J, Sim AS, Wang XL, et al. (2006).** Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis.*, **184**(2):383-8.
- Wang S, Wright G, Harrah J, et al. (2000).** Short-term exposure to homocysteine depresses rat aortic contractility by an endothelium-dependent mechanism. *Can J Physiol Pharmacol.*, **78**: 500-506.
- Weber K, Osborn M. (1969).** The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J Biol Chem.*, **244**: 4406-4412.
- Weitzberg E., Lundberg JON. (1998).** Nonenzymatic nitric oxide production in humans. *Nitric Oxide Biol Chem.*, **2**(1):1-7.

Welch WJ, Wilcox CS. (1997). Macula densa arginine delivery and uptake in the rat regulates glomerular capillary pressure: effects of salt intake. *J Clin Invest.*, **100**: 2235-2242.

Wells SM, Holian A. (2007). Asymmetric dimethylarginine induces oxidative and nitrosative stress in murine lung epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **36**: 520-528.

Wink DA Mitchell JB. (1998). Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med.*, **25(4-5)**:434-56.

Yadav AS, Bhagwat VR, Rathod IM (2006). Relationship of plasma homocysteine with lipid profile parameters in ischemic heart disease. *Indian J Clin Biochem.*, **21 (1)**,106- 110.

Yang, D., Lang, U., Greenberg, SG., Myatt, L., Clark, K. (1996). Elevation of nitrate levels in pregnant ewes and their fetuses. *Am J Obstet Gynecol.*, **174**:573-577.

Yıldırım AO, Bulau P, Zakrzewicz D et al. (2006). Increased Protein Arginine Methylation in Chronic Hypoxia: Role of Protein Arginine Methyltransferases. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **35**: 436-43.

Yilmaz, M. I., Saglam, M., Caglar, K., Cakir, E., Ozgurtas, T., Sonmez, A., ve Ozcan, O. (2005). Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation, *Transplantation*

Zeiber AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, Busse R. (1995). Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circ Res.*, **76(6)**:980-6.

Zhang, L., Xiao, D., David, B., Bouslough, B. (1998). Long-term high-altitude hypoxia increases plasma nitrate levels in pregnant ewes and their fetuses. *Am J Obstet Gynecol.*, **179**:1594-1598.

Zhang XH. (2000). Effects of homocysteine on endothelial NO production. *Am. J Physiol Renal Physiol.*, **279**: F671-F67

